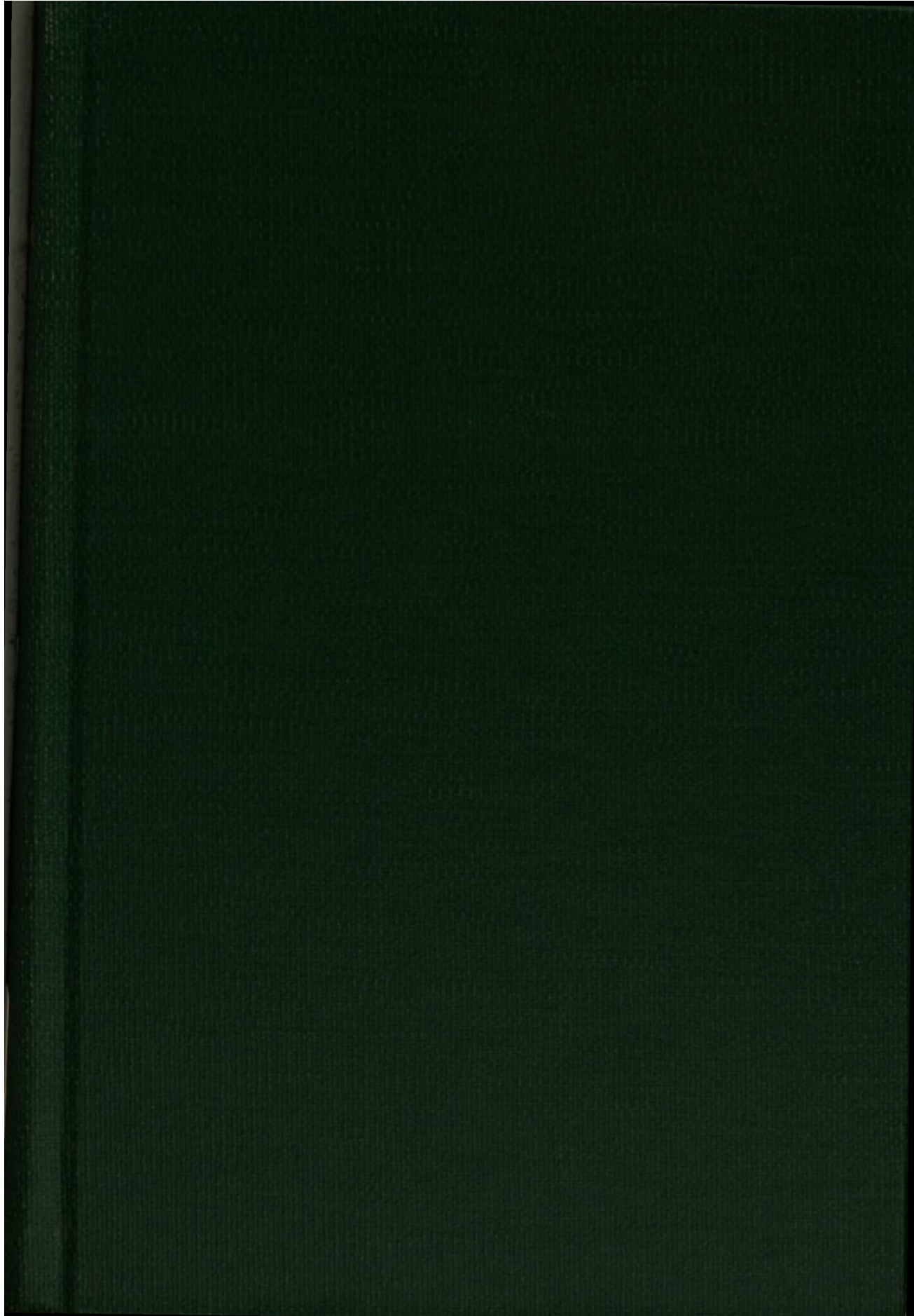
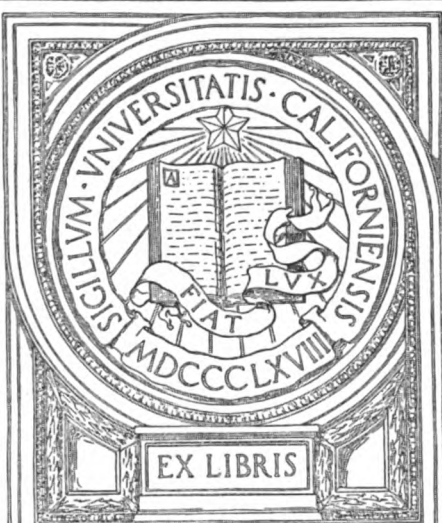




UNIVERSITY OF CALIFORNIA
MEDICAL CENTER LIBRARY
SAN FRANCISCO



EX LIBRIS

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister - Würzburg, C. von Noorden - Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris,
A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Seapel, G. Bredig-
Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stock-
holm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien,
H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-
Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Härtl-Budapest,
F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-
Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-
Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kochmann-Halle
a. S., F. Landolf-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-
New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat,
A. Loewy-Berlin, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin,
J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Melsenheimer-
Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag,
H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-
St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-
Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-
Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloß-
mann-Düsseldorf, S. P. L. Sörensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London,
J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-
Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeler-München, K. Thomas-Leipzig
H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund
W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertneunundzwanzigster Band



Berlin

Verlag von Julius Springer

1922

Inhaltsverzeichnis.

	Seite
Abelin, J. Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. V. Mitteilung. Vegetatives Nervensystem und Stoffwechsel	1
Selfert, W. Der Löhnersche Randwulst am keimfreien Hof als Stütze des Arndtschen Grundgesetzes	50
Kofler, Ludwig. Die Oberflächenaktivität und die Giftwirkung der Saponine. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen physiologischer Wirkung und physikalischen Eigenschaften	64
Cobet, E. und V. van der Reis. Über den Einfluß der arsenigen Säure auf das Bakterienwachstum. (Nebst Bemerkungen über Randwulstbildungen durch sogenannte oligodynamische Metallwirkung)	73
Partos, S. Über das Hämochrom von Herzfeld und Klinger	89
Rosenmann, M. Über Fibrinolyse. III. Mitteilung	101
Ljungdahl, Malte. Zur Frage der Restreduktion	111
Lifschütz, I. Zur Kenntnis des Metacholesterins und seiner Nebenprodukte. III. Mitteilung	115
Haramaki, Katsumi. Über den Einfluß von Secretinlösungen auf die Darmmotilität	128
Freudenberg, E. und P. György. Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VII. Mitteilung	134
— Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VIII. Mitteilung	138
Boas, Friedrich. Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle. II. Mitteilung	144
Hamburger, Rudolf J. Über die Bedeutung der Kalium- und Calciumionen für das künstliche Ödem und für die Gefäßweite	153
Hamburger, H. J. Bestimmung der relativen Anzahl roter Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve) mittels Na_2SO_4 . Einfluß der Nahrung auf Resistenz und Regeneration bei Blutungsanämie	163
Hetényi, Stefan. Die Wirkung des Phlorrhizins auf den Blutzucker bei diffusen doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen. Ein Beitrag zur Frage der Phlorrhizinwirkung	183
Meyer, Kurt. Nachtrag zu meiner Arbeit: Zur Kenntnis des heterogenetischen Hammelblutantigens	187
— Über die Beziehungen des heterogenetischen Hammelblutantigens zu anderen lipiden Antigenen	188
Bachem, C. Über ein neues Antisepticum mit hohem Jodgehalt (Diäthylen-disulfidtetrajodid)	190
Tsuji, M. Über den Stoffwechsel bei vitaminfreier Ernährung	194
Weber, Ulrich. Beitrag zur Kenntnis der esterbildenden Hefen	208
Berczeller, L. Über die biologische Wertung der Nahrungsmittel	217
— Über die Rolle der Artspezifität der Eiweißkörper in der Ernährung. Leguminosen	239
— Über die Rolle des Geschmacks (Instinkt) in der Ernährung. Leguminosen	251
— Brotgetreidearten	270
— Die Untersuchung des Mahlprozesses	289

	Seite
Berezeller, L. Die Untersuchung des Sojamehles	313
Die biologische Korrelation zwischen hauptsächlich eiweiß- und hauptsächlich kohlenhydrathaltiger Nahrung	320
Sarin, E. Über die Fermente der Verdauungsorgane der Skorpione	359
Walbum, L. E. Studien über die Bildung der bakteriellen Toxine. I. Mitteilung. Staphylolysin	367
Berichtigung	444
Butkewitsch, Wl. Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von <i>Aspergillus niger</i> auf Pepton	445
Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die <i>Citromyces</i> -Arten	455
Über die Bildung und Anhaufung der Oxalsäure in den <i>Citromyces</i> -Kulturen auf den Salzen der organischen Säuren	464
Hofmeister, Franz. Studien über qualitative Unterernährung. II. Mitteilung. Der experimentelle Nachweis des Antineuritins	477
Kiß, Julius. Zur physikalischen Chemie der Alexinbindungsreaktionen	487
Haramaki, Katsumi. Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke der Secretine des Digestionstractus	503
Tulina, Božo. Vergleichende Versuche über die Einwirkung der Selen-, Schwefel- und Tellursalze auf die Pflanzen. (Nebst Bemerkungen zu der Frage, ob die allgemeine Ansicht von der Absorption der anorganischen Stoffe durch das Wurzelsystem zu ändern ist)	507
Bartfeld, Bernhard. Über die subakute Uranvergiftung der Kaninchen	534
Günzburg, Ludwig. Über Theobrominausscheidung und Theobromindiurese	549
Okushima, Kwanichiro. Über die Coffeinausscheidung im Harn nach dem Tee- und Kaffeetrinken beim Menschen	563
Loeb, L. Farmer. Über die Coffeinkonzentration im Blut und Harn beim Kaninchen nach parenteraler Einverleibung	570
Falta, W. und M. Richter-Quittner. Nochmals zur Frage der Verteilung des Zuckers auf Blutkörperchen und Plasma	576
Biedermann, W. Die Regeneration der Diastase und ihre Abhängigkeit vom Sauerstoff	582
Meyerhof, Otto. Die Verbrennungswärme der Milchsäure	594
Koritschoner, Robert. Refraktometrische Untersuchungen über die Reaktionen zwischen isolierten Krebszellen und Blutserum. II. Mitteilung	605
Berichtigung	620
Autorenverzeichnis	621

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M. 2 1962
E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin,

unter Mitwirkung von

San Francisco, 22

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris,
A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-
Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stock-
holm, S. Flexner-New York, J. Forsman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien,
H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-
Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hári-Budapest,
E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen,
R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen,
R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kochmann-Halle a. S.,
F. Landolt-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-
New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat,
A. Loewy-Berlin, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-
New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-Greifswald,
L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, H. Mursch-
hauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg,
J. K. Parnas-Lemberg, W. Pauli-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-
Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Peters-
burg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sörensen-
Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-
Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio,
H. v. Tappeiner-München, K. Thomas-Leipzig, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-
Bostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig,
J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

129
Hundertneunundzwanzigster Band

Erstes und zweites Heft

Ausgegeben am 19. April 1922



Berlin

Verlag von Julius Springer

1922

GIFT

Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes im Umfange von 40 Bogen beträgt M. 168.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

129. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Heft 1/2. Seite
Abelin, J.	Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteinogenen Amine. V. Mitteilung. Vegetatives Nervensystem und Stoffwechsel	1
Seiffert, W.	Der Löhnersche Randwulst am keimfreien Hof als Stütze des Arndtschen Grundgesetzes	50
Koller, Ludwig.	Die Oberflächenaktivität und die Giftwirkung der Saponine. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen physiologischer Wirkung und physikalischen Eigenschaften	64
Cobet, R. und V. van der Reis.	Über den Einfluß der arsenigen Säure auf das Bakterienwachstum. (Nebst Bemerkungen über Randwulstbildungen durch sogenannte oligodynamische Metallwirkung)	73
Partos, S.	Über das Hämochrom von Herzfeld und Klinger	89
Rosenmann, M.	Über Fibrinolyse. III. Mitteilung	101
Ljungdahl, Malte.	Zur Frage der Restreduktion	111
Lifschütz, I.	Zur Kenntnis des Metacholesterins und seiner Nebenprodukte. III. Mitteilung	115
Haramaki, Katsumi.	Über den Einfluß von Secretinlösungen auf die Darmmotilität	128
Freudenberg, E. und P. György.	Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VII. Mitteilung	134
Freudenberg, E. und P. György.	Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VIII. Mitteilung	138
Boas, Friedrich.	Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle. II. Mitteilung	144
Hamburger, Rudolf J.	Über die Bedeutung der Kalium- und Calciumionen für das künstliche Ödem und für die Gefäßweite	153
Hamburger, H. J.	Bestimmung der relativen Anzahl roter Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve) mittels Na_2SO_4 . Einfluß der Nahrung auf Resistenz und Regeneration bei Blutungsanämie	163
Hetényi, Stefan.	Die Wirkung des Phlorrhizins auf den Blutzucker bei diffusen doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen. Ein Beitrag zur Frage der Phlorrhizinwirkung	183
Meyer, Kurt.	Nachtrag zu meiner Arbeit: Zur Kenntnis des heterogenetischen Hammelblutantigens.	187
Meyer, Kurt.	Über die Beziehungen des heterogenetischen Hammelblutantigens zu anderen lipoiden Antigenen	188
Bachem, C.	Über ein neues Antisepticum mit hohem Jodgehalt (Diäthylendisulfidtetrajodid)	190
Tsuji, M.	Über den Stoffwechsel bei vitaminfreier Ernährung	194
Weber, Ulrich.	Beitrag zur Kenntnis der esterbildenden Hefen	208

Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteino-genen Amine.

V. Mitteilung.

Vegetatives Nervensystem und Stoffwechsel.

Von

J. Abelin.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 5. Januar 1922.)

Mit 22 Tabellen im Text.

Man bezeichnet die Tätigkeit eines lebenden Wesens unter dem dauernden Einfluß einer Summe von äußeren Lebensbedingungen als „physiologisch“, als normal. Diese normale Tätigkeit kann innerhalb gewisser Grenzen sowohl verstärkt als auch abgeschwächt werden, ohne daß eine tiefgreifende Schädigung des Organismus daraus entsteht. Es gilt dies nicht nur für den Organismus als Komplex zahlloser Bestandteile, sondern auch für die einzelnen Organe. Das Herz, die Lunge, die drüsigen Organe zeigen in der Ruhe, d. h. bei einer gewissen Summe von gegebenen Reizen eine bestimmte Leistung auf. Diese Leistungen gehen aber sofort in die Höhe, wenn höhere Ansprüche gestellt werden. Auch eine gewisse Herabsetzung der physiologischen Leistungen ist innerhalb bestimmter Grenzen möglich. Es sollen uns hier nicht die einzelnen Organe, sondern der Organismus als Ganzes interessieren, und zwar die Gesamtheit seiner Stoffzersetzungen und Energieumwandlungen. Auch hier muß sich ein „Ruhewert“ ergeben, der sich ganz synchron mit der Änderung der Lebensbedingungen ändern muß. Wir kennen eine ganze Reihe von Reizen, welche den Stoffwechsel beeinflussen. In zahlreichen Untersuchungen wurde die Wirkung der mechanischen Arbeitsleistung, der Temperatur, der Nahrungsaufnahme, der Nahrungsentziehung, der Körperoberfläche, des Klimas, der Meereshöhe usw. auf den Verlauf der Stoffwechselvorgänge studiert. Wenn wir finden, daß bei einer Erhöhung der Außentemperatur der Stoffwechsel sinkt und bei Erniedrigung der Umgebungstemperatur dagegen ansteigt, oder wenn wir eine vermehrte Stoffzersetzung bei erhöhter

mechanischer Beanspruchung des Organismus beobachten, so erscheinen uns diese Verhältnisse als mehr oder weniger abgeklärt und in ihrem Zusammenhange ganz nützlich eingerichtet.

Es gibt aber eine Gruppe von Reizen, welche unseren Stoffwechsel in hohem Maße beeinflussen, über deren Wesen wir aber noch ganz unvollständig aufgeklärt sind. Es sind das die chemischen Reize. Dieses Problem ist an und für sich nicht neu. Die Arbeiten von Claude Bernard, Voit, Rubner, Zuntz, Loewy u. a. über die Bedeutung der Eiweißkörper, Fette, Kohlenhydrate und der einzelnen Salze und Ionen für die Stoffwechselprozesse, die Untersuchungen über die gegenseitige Ersatzmöglichkeit der verschiedenen Nahrungsgruppen sind in erster Linie chemische Fragestellungen. Die moderne Stoffwechsellehre ging aber weiter. Bei näherer Erforschung ergaben sich Unterschiede nicht nur zwischen der Gruppe der Eiweißkörper und derjenigen der Fette und Kohlenhydrate oder zwischen den Zuckern und den Fetten, es konnte vielmehr festgestellt werden, daß auch innerhalb der Vertreter ein und derselben Gruppe, z. B. der Eiweißkörper, der Fette tiefgreifende Unterschiede bestehen. Die verschiedene „biologische Wertigkeit“ der Eiweißkörper, die Bedeutung der einzelnen Aminosäuren nicht nur für den Umfang des Stoffwechsels, sondern selbst für die Existenz eines Organismus, die neuerdings gefundene „biologische Wertigkeit“ der Fette deuten daraufhin, daß unser gesamter Stoffwechsel mit einer außerordentlichen Feinheit auf die kleinsten chemischen Differenzierungen und die feinsten chemischen Reize eingestellt ist.

Lebenswichtige chemische Reize werden uns aber nicht nur durch die erforschten Gruppen der Eiweißkörper, der Fette usw. zugeführt. Es beteiligen sich daran noch viele andere chemische Substanzen, deren Natur wir noch nicht kennen. Wir wissen nur jetzt mit Sicherheit, daß sie existieren. Als Beispiel kann die Gruppe der sog. „akzessorischen Nährstoffe“ dienen. Hier zeigte es sich, daß ein kürzer oder länger dauernder Entzug von Stoffen, die wir normalerweise nur in minimalen Mengen aufnehmen, eine hohe Schädigung des Stoffwechsels bewirkt und zum Tode führt. Nicht nur „Bausteine“, sondern Spuren von „Nebenstoffen“, die man früher gar nicht kannte, verändern die ganzen Stoffwechselvorgänge so, daß selbst die wertvollsten Nahrungsbestandteile nicht ausgenutzt werden können. Neben diesen akzessorischen Nährstoffen gibt es, wie weiter unten gezeigt werden soll, zahlreiche andere chemische Verbindungen, die selbst in minimalen Mengen „spezifisch dynamisch“, wenn man so sagen darf, auf die Stoffwechselvorgänge wirken. Und gerade diese unüberbrückbare Distanz zwischen „Menge“ und „Wirkung“ eröffnet ein neues Forschungsgebiet von großer Tragweite, eine wesentliche Erweiterung, einen quantitativen und qualitativen Ausbau unserer Begriffe von den chemischen Be-

einflussungen der Stoffwechselprozesse. Nur eine systematische, konsequent durchgeführte Prüfung der einzelnen Gruppen von wirksamen Stoffen kann hier einen Fortschritt bringen. Und je genauer wir nicht nur die chemische Zusammensetzung, sondern auch die physiologische Wirkung des benutzten Reizmittels kennen, desto sicherer sind wir in der Beurteilung des erzielten Effektes auf die Stoffwechselvorgänge.

Gelegentlich anderer Untersuchungen konnte vor einigen Jahren gezeigt werden, daß gewisse Vertreter der Reihe der sog. proteinogenen Amine selbst in Mengen, die weder als N-Quelle, noch energetisch in Betracht kommen, den Stoffwechsel wesentlich erhöhen¹⁾. Bei schilddrüsenlosen Hunden rief die Einführung von Tyramin und Phenyläthylamin eine bedeutende Zunahme der N-Ausscheidung im Harn und eine Vermehrung der Urinabsonderung hervor. An weißen Ratten wurde ferner gezeigt, daß auch der Gaswechsel unter dem Einfluß von Tyramin und Phenyläthylamin ansteigt. Bereits in den früheren Arbeiten wurde die Frage aufgeworfen, wie diese auffallende Wirkung der Amine zu erklären ist. Die vorliegende Untersuchung bezweckt die geplante nähere Analyse dieser Stoffwechselbeeinflussung. Eine der hervorstechendsten Wirkungen des Tyramins und Phenyläthylamins ist die Erregung des sympathischen Nervensystems und es wurde in der II. Mitteilung dieser Beiträge die Frage diskutiert, ob nicht „diese Beeinflussung des sympathischen Nervensystems auch an der Erhöhung des gesamten Stoffwechsels schuld ist“²⁾. Mit dieser Fragestellung war der weitere Gang der Untersuchung gegeben. Es mußte die Stoffwechselwirkung auch anderer Verbindungen geprüft werden, von denen allgemein bekannt ist, daß sie das sympathische oder, allgemein gesagt, das vegetative Nervensystem beeinflussen³⁾. In dieser Absicht wurden auf ihre Stoffwechselwirkung bei der Ratte Adrenalin, Tyramin + Phenyläthylamin, Cholin, Acetylcholin, die wirksamen Schilddrüsenstoffe, Pilocarpin, Atropin, Histamin untersucht.

In erster Linie mußte die Frage der Adrenalinwirkung auf den Gaswechsel gelöst werden. Adrenalin ist ein typischer Vertreter der Erregungsmittel des sympathischen Nervensystems und alle Betrachtungen über die Bedeutung des vegetativen Nervensystems für die Stoffwechselprozesse wären nicht befriedigend, wenn sich ergeben sollte, daß die Adrenalinzufuhr den Gaswechsel der Ratte nicht beeinflusst. Die Wirkung

1) J. Abelin, I., II. und III. Mitt. Diese Zeitschr. **93**, **101**, **102**.

2) Diese Zeitschr. **101**, 237.

3) Unter dem Ausdruck „vegetatives Nervensystem“ wird im folgenden das sympathische und parasympathische Nervensystem verstanden. Die hier untersuchten Präparate beeinflussen auch das sogen. enterale Nervensystem (Herz, Darm, Uterus). Über die Nomenklatur des vegetativen Nervensystems vgl. Rud. Pophal, Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **19**, 743. 1920.

des Adrenalins auf den Gaswechsel ist relativ wenig untersucht. Es ist sehr auffallend, daß trotz der ungeheuren Zahl der ausgeführten Arbeiten über die allerverschiedenste Wirkung des Adrenalins, Cholins, Pilocarpins, Atropins sowohl auf den Gesamtorganismus als auch auf die einzelnen Organe gerade die Stoffwechselwirkung entweder überhaupt nicht oder nur ganz unvollständig diskutiert wird. Es mußten daher eigene Versuche angestellt werden. Diese zeigten, daß nach Einfuhr von Adrenalin sowohl die Kohlensäureausscheidung als auch der Sauerstoffverbrauch eine sehr große Steigerung erfahren. Beim Adrenalin hat es sich also bestätigen lassen, daß ein gewisser Zusammenhang zwischen der Erregung des sympathischen Nervensystems und der Stoffwechselbeeinflussung besteht. Es mußte ferner geprüft werden, ob nur die Erregung des sog. sympathischen Teiles des vegetativen Nervensystems zu einer Erhöhung des Gaswechsels führt, oder ob diese Eigentümlichkeit auch dem anderen Teil des vegetativen Nervensystems, dem sog. Parasympathicus zukommt. Versuche mit Acetylcholin, Cholin, Atropin, Pilocarpin führten zum Ergebnis, daß auch die parasympathisch angreifenden Substanzen den Gaswechsel beeinflussen.

Dies ist das wesentliche Ergebnis der zahlreich ausgeführten Gaswechselversuche und es ist unbedingt nötig zu prüfen, ob diese experimentellen Befunde mit anderen bereits bekannten Tatsachen in Zusammenhang gebracht werden können und ob diese Tatsachen für oder wider die hier gemachten Befunde sprechen.

Gibt es sicher festgestellte Fälle, wo Substanzen, die auf das vegetative Nervensystem wirken, zugleich auch Stoffwechselvorgänge beeinflussen? Solche Fälle sind zahlreich bekannt. Sie treten sofort vor uns auf, wenn wir an den Kohlenhydratstoffwechsel denken. Eine der konstantesten Wirkungen des Adrenalins ist die Verstärkung der zuckerabbauenden Vorgänge und das Auftreten der damit verknüpften Glykogenmobilisierung, Hyperglykämie und oft Glykosurie. Das nämliche läßt sich vom Tyramin und Phenyläthylamin sagen: diese Amine erhöhen nicht nur den Stoffwechsel, sondern bedingen ebenso wie das Adrenalin einen Glykogenschwund aus der Leber¹⁾, eine Hyperglykämie und Glycosurie²⁾. Diese Trias, Glykogenmobilisation, Hyperglykämie und Glycosurie, fand auch S. Morita³⁾ bei mehreren von ihm untersuchten Derivaten des Brenzcatechins mit sympathomimetischer Wirkung. L. Pollak⁴⁾ führt wenigstens einen Teil der bekannten Glycosurien auf Reizung des sympathischen Nervensystems zurück, und es ist mir bis jetzt keine Substanz be-

¹⁾ Vgl. III. Mitt. dieser Beiträge, diese Zeitschr. **102**, 39.

²⁾ M. Kageyama, zit. nach Chem. Zentralbl. **1920**, 496.

³⁾ S. Morita, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **78**, 245.

⁴⁾ L. Pollak, Med. Klinik 1921, S. 925.

kannt, welche den Sympathicus erregt und nicht zugleich auf den Glykogenstoffwechsel einwirkt. Zu den sympathisch erregenden Mitteln gehört auch das Tetrahydronaphthylamin. Ganz entsprechend den gemachten Voraussetzungen zeigte mir das Studium der Literatur, daß auch dieser Stoff sowohl Glykogenmobilisierung¹⁾ und Hyperglykämie²⁾ bewirkt, als auch den Gaswechsel stark beeinflußt³⁾. Eigene Versuche erwiesen sich bei dieser Sachlage unnötig. Und nicht nur die sympathisch, sondern auch die parasympathisch wirkenden Stoffe, Cholin, Pilocarpin, Atropin, haben neben der Beeinflussung des Gaswechsels auch noch die spezielle Wirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel⁴⁾. Zur besseren Übersicht soll hier in Form einer Tabelle die Wirkung der typischen Vertreter der sympathisch und parasympathisch wirkenden Mittel auf den Gesamtstoffwechsel und den Kohlenhydratstoffwechsel zusammengestellt werden.

Präparat	Wirkung auf das vegetative Nervensystem	Wirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel	Wirkung auf den Gesamtstoffwechsel	Wirkung auf die Harnabscheidung
Adrenalin	sympathisch erregend	Glykogenmobilisation Hyperglykämie, Glycosurie	N-Ausscheidung vermehrt, Gaswechsel erhöht	oft vermehrt
Tyramin, Phenyl- aethylamin	sympathisch erregend	Glykogenmobilisation Hyperglykämie, Glycosurie	N-Ausscheidung vermehrt, Gaswechsel erhöht	oft vermehrt
Tetrahydro- β - naphthylamin	sympathisch erregend	Glykogenmobilisation Hyperglykämie.	Gaswechsel erhöht	?
Cholin	parasympathisch erregend	Hyperglykämie	Gaswechsel erhöht	
Pilocarpin	parasympathisch erregend	Hyperglykämie, Glycosurie	Gaswechsel erhöht	
Atropin	parasympathisch lähmend	Hyperglykämie	Gaswechsel erhöht	
Schilddrüsen- stoffe	sympathisch, parasympathisch erregend	Glykogenmobilisation, Hyperglykämie, manchmal Glycosurie	N-Ausscheidung vermehrt, Gaswechsel erhöht	oft vermehrt

Wie ersichtlich, ist bei den aufgezählten Substanzen die Übereinstimmung der beiden Grundwirkungen eine vollständige und es muß dieser Zusammenhang noch näher erforscht werden. Diese Parallelwirkung auf den Kohlenhydrat- und den allgemeinen Stoffwechsel ist natürlich nicht befremdend, sondern reiht sich an die herrschenden Anschauungen gut an. Ja, man würde schwierig eine Erklärung finden

¹⁾ S. Morita, l. c., S. 275.

²⁾ J. de Corral, diese Zeitschr. 1918.

³⁾ R. Isenschmid, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 85, 271. 1920.

⁴⁾ Literatur weiter unten.

können, wenn die Sachlage anders wäre. Alle Stoffwechselvorgänge sind eng miteinander verknüpft, die Natur kennt keinen „reinen“ Kohlenhydratstoffwechsel, ebenso wie keinen reinen Eiweiß- oder Fettstoffwechsel. Es genügt der Hinweis auf die Abhängigkeit des Zuckers vom Fettstoffwechsel, auf die Zusammenhänge zwischen dem Kohlenhydrat- und dem Eiweißstoffwechsel, auf die Folgen eines Glykogenschwundes oder einer Hyperglykämie für die Vorgänge in allen Körperzellen. Wenn man sich bis jetzt hauptsächlich mit der Wirkung auf den Kohlenhydratstoffwechsel beschäftigt hat, so ist wenigstens eine teilweise Erklärung darin zu suchen, daß wir in der Analyse des Leberglykogens, des Zuckergehaltes des Blutes und im Auftreten von größeren Zuckermengen im Harn ausgezeichnete und relativ einfache Hilfsmittel haben, um die uns interessierende Frage zu verfolgen — Hilfsmittel, die wir für den Eiweiß- und Fettstoffwechsel nicht oder in ungenügendem Maße besitzen. Fahndet man aber nicht nur nach dem Kohlenhydratstoffwechsel, so erkennt man sofort die allgemeine Stoffwechselwirkung der das vegetative Nervensystem angreifenden Substanzen.

Welche Bedeutung der Glykogenmobilisierung und der Hyperglykämie bei der Stoffwechselsteigerung zukommt, ist nicht leicht zu sagen. Wir wissen zwar, daß bei erhöhten Ansprüchen an den Organismus oder im Hungerzustande die Kohlenhydrate in erster Linie angegriffen werden. Das kleine Molekül des Traubenzuckers mit seinen 6 reaktionsfähigen Gruppen ist leichter angreifbar als das Fett oder das Eiweiß. Zudem besitzen die Kohlenhydrate die bekannte eiweißsparende Wirkung, die für die Lebensprozesse von großer Wichtigkeit ist. Man könnte annehmen, daß die Kohlenhydrate die gleiche Rolle übernehmen, wenn der Organismus höhere Leistungen aufzuweisen hat, nicht infolge mechanischer Beanspruchung oder Nahrungsentziehung, sondern infolge spezifischer chemischer Reize. Doch ist eine Glykogenmobilisierung nicht immer, ja sogar selten von einer vermehrten Zuckerverbrennung begleitet (vgl. darüber Tabelle I, II u. f.) und es scheint, daß die bloße Glykogenausschüttung eine große, aber noch unbekannte biologische Bedeutung hat.

Einen physiologisch wichtigen Stoff mit einer sehr starken Stoffwechselwirkung haben wir bis jetzt nicht behandelt — die Schilddrüsensubstanz. Es wird angenommen, daß gerade zwischen der Schilddrüse und dem vegetativen Nervensystem innige Beziehungen bestehen. Die Stoffwechselwirkung der Thyreoidea ist nur eine Teilerscheinung dieser Erregung des vegetativen Nervensystems. Auch bei der Schilddrüse finden wir den typischen Einfluß auf den Kohlenhydratstoffwechsel: nach Verfütterung von Thyreoidea erscheint die Leberglykogenarm oder glykogenfrei [Cramer und Krause¹], S. Kuri-

¹) Cramer und Krause, Proc. roy. soc. 86. 1913.

yama¹⁾, M. Parhon²⁾, Abelin und Jaffe]. Horrisberger³⁾ untersuchte vor kurzem die kombinierte Wirkung von Thyreoideaerfütterung und Phlorizininjektion auf den Kohlenhydrat- und den Gaswechsel. Die Tiere hatten sehr starke Glycosurien, zeigten auch zugleich hohe Steigerungen des respiratorischen Stoffwechsels auf. Auch in mancher anderer Hinsicht ähnelt die Schilddrüsenwirkung derjenigen vieler anderer Substanzen mit vegetativ erregender Wirkung. Typisch ist z. B. der Verlauf der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse. Die Stoffwechselerhöhung setzt nicht sofort nach Thyreoideaaufnahme ein und klingt langsam ab. Gerade diese Momente veranlaßten seinerzeit auf die Analogie zwischen der physiologischen Schilddrüsenwirkung und der Wirkung gewisser proteinogener Amine vom Typus des Tyramins und Phenyläthylamins hinzuweisen. Wir können nun auf Grund der hier ausgeführten Versuche noch etwas weiter gehen und nicht nur von einer Analogie der Stoffwechselwirkung der Schilddrüse und der proteinogenen Amine, sondern von einer Analogie mit der Stoffwechselwirkung vieler das vegetative Nervensystem angreifenden Stoffe sprechen. Es muß aber betont werden, daß von allen bis jetzt geprüften Substanzen das Tyramin und Phenyläthylamin der physiologischen Schilddrüsenwirkung am nächsten stehen. Außer den bei beiden Stoffgruppen vorhandenen Wirkungen auf den Stickstoffstoffwechsel, Gaswechsel, Glykogenmobilisierung, Wasserausscheidung sind noch weitere Analogien bekannt geworden, besonders dank den schönen Untersuchungen von L. Adler⁴⁾. Adler machte die sehr interessante Beobachtung, daß winterschlafende Igel nach Injektion von Schilddrüse erwachen, wobei die Körpertemperatur zu sommerlicher Höhe ansteigt und die Atemfrequenz stark erhöht wird. Der gleiche Erfolg wurde von Adler auch durch Injektion von Tyramin und Phenyläthylamin erzielt. Adrenalin sowie Thymusextrakt waren ebenfalls wirksam. Eine weitere interessante Analogie zwischen der Schilddrüsen- und der Tyraminwirkung konnte O. Wuth⁵⁾ auffinden. Nach Wuth läßt sich bei weißen Mäusen eine Resistenzerhöhung gegen Cyanvergiftung nicht nur durch Schilddrüsenvorbehandlung (Reid Hunt), sondern auch durch Tyramininjektionen erzielen. Auch Dijodtyramin war wirksam.

Ob Tyramin und Phenyläthylamin in manchen Fällen auch therapeutisch an Stelle oder neben der Schilddrüse gebraucht werden können, ist bis jetzt nicht erforscht.

¹⁾ S. Kuriyama, *Americ. Journ. of physiol.* **43**, 481. 1917.

²⁾ M. Parhon, *Journ. de physiol. et de pathol. gén.* **15**, 76. 1913.

³⁾ Horrisberger, *diese Zeitschr.* **121**, 64.

⁴⁾ L. Adler, *Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol.* **86**, 159. 1920.

⁵⁾ O. Wuth, *diese Zeitschr.* **116**, 237. 1921.

An die Feststellung, daß viele typische Vertreter der auf das vegetative Nervensystem wirkenden Stoffe auch den allgemeinen Stoffwechsel beeinflussen, knüpft sich eine große Reihe anderer Fragen an, deren Besprechung den Rahmen der uns hier interessierenden Probleme weit überschreitet. Es sollen daher nur einzelne Punkte kurz gestreift werden. Wo greift dieser „chemische Reiz“ an? Greift er zentral oder peripher oder an beiden Orten zugleich an?

Das Problem des Angriffspunktes vieler der hier untersuchten Substanzen wurde schon mehrfach behandelt. Die zahlreichen Arbeiten von Asher und seiner Mitarbeiter sprechen in dem Sinne, daß Adrenalin, dessen Angriffspunkt zuerst von Levandovsky, Langley, Elliot studiert wurde, sowie andere ähnlich wirkende Substanzen weder direkt an der Muskelsubstanz, noch direkt am Nerven, sondern an einer von ihm bezeichneten neuroplastischen Zwischensubstanz angreifen. Eine genaue Diskussion dieser Fragen ist in den Arbeiten von R. G. Pearce¹⁾ und H. Streuli²⁾ enthalten. R. Isenschmid³⁾ untersuchte das Tetrahydro- β -Naphthylamin bei Tieren, deren zentrale Wärmeregulation operativ ausgeschaltet war und fand, daß es auch unter diesen Umständen zu einer beträchtlichen Steigerung des Gesamtstoffwechsels kommt. Isenschmid nimmt daher an, daß Tetrahydro- β -naphthylamin am peripheren Sympathicus angreift und auf diesem Wege zu einer Steigerung des Energieumsatzes führt. Er vermutet auch, „daß das periphere vegetative Nervensystem auch in bezug auf die Beeinflussung des Stoffwechsels eine gewisse Autonomie besitzen könnte“. Die Frage des Angriffspunktes der Blutdrüsenhormone bei der Wärmeregulation wurde vor kurzem auch von L. Adler⁴⁾ untersucht. Zu diesen Versuchen dienten winterschlafende Igel, „denen entweder operativ die zentralen wärmeregulierenden Zentren zerstört waren oder denen der Sympathicus durch Ergotoxin für Erregungen unzugänglich gemacht oder an denen endlich sowohl das Wärmzentrum ausgeschaltet und zugleich der Sympathicus ergotoxingelähmt war.“ Bei den so vorbehandelten Igeln führte die Injektion von Schilddrüsenextrakten, Adrenalin oder Phenyläthylamin + Tyramin zu einer Steigerung der Körpertemperatur. Die Temperaturerhöhung war aber nicht so bedeutend wie bei Tieren mit erhaltener zentraler Wärmeregulation und wohlfunktionierendem Sympathicus. L. Adler ist der Ansicht, daß die Blutdrüsenhormone und die proteinogenen Amine die nervösen Zentren beeinflussen, daß aber ihr Angriffspunkt vor-

¹⁾ R. G. Pearce, Zeitschr. f. Biol. **62**.

²⁾ H. Streuli, Zeitschr. f. Biol. **66**.

³⁾ R. Isenschmid, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **85**, 271.

⁴⁾ L. Adler, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **87**. 1920. — Mansfeld, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **161**. 1915.

nehmlich ein peripherer, ein cellularer ist. Berücksichtigt man noch die Untersuchungen von Mansfeld über die Beziehungen zwischen Muskeltonus und Sympathicus, ferner die neueren Angaben über eine sympathische oder parasympathische Innervation einer der Hauptstätten des Stoffwechsels — der quergestreiften Muskulatur (J. Boeke, de Boer, E. Frank), so ergeben sich weitere Anhaltspunkte für die Annahme eines peripheren Angriffspunktes vieler der hier geprüften Substanzen. R. Allers¹⁾ neigt mehr der Auffassung zu, daß es für viele Stoffwechselprozesse neben den peripheren Mechanismen noch einen zentralen Regulierungsmechanismus gibt. Der Sitz dieses zentralen Apparates wird von Allers in das Zwischenhirn verlegt. Die Frage des Angriffs läßt sich nicht genau beantworten und zur vollständigen Klärung dieser Verhältnisse sind noch sehr zahlreiche Untersuchungen nötig.

Mag nun der Angriffspunkt hier oder dort liegen, jedenfalls beweisen die unten angeführten Versuche, daß die vegetativ angreifenden Substanzen starke Reizmittel der Stoffwechselprozesse sind. Es ist dabei sehr wahrscheinlich, daß diese Stoffe nur quantitative Änderungen physiologisch bestehender Reize bewirken. Unter diesen Umständen muß man dem vegetativen Nervensystem und den auf dasselbe einwirkenden Mitteln große Bedeutung für die Regulierung und die Größe der Stoffwechselvorgänge beimessen. Die beinahe überall zu findende Betonung der Beteiligung des vegetativen Nervensystems und der vegetativ wirksamen Stoffe an der Regelung der Organfunktionen ist sicher einseitig. Wenn wir die Wirkung auf den Zustand oder die Wirkung auf den Stoffwechsel eines Organs untersuchen, so prüfen wir einen Teil eines unzerlegbaren Ganzes, denn eine Überwachung der „Funktion“ ist ohne gleichzeitiges Eingreifen in die Stoff- und Energieumwandlungen undenkbar.

Experimentelles.

Die Methode der Gaswechselbestimmungen an der Ratte wurde von Danoff²⁾ und in der II. Mitteilung genau beschrieben. Es erübrigt sich daher, die Arbeitsweise hier nochmals zu schildern. Im Prinzip besteht die Methode darin, daß die Ausscheidung der Kohlensäure und des Wassers durch Wägung bestimmt werden. Aus diesen Zahlen und aus dem Gewichtsverlust des Tieres läßt sich der Sauerstoffverbrauch berechnen. Ist nun die Größe der Kohlensäureausscheidung und des Sauerstoffverbrauches bekannt, und ist aus dem Verhältnis dieser Zahlen der respiratorische Quotient berechnet, so ist damit eine Einsicht in den Gaswechsel gegeben. Es wurde darauf geachtet, daß während der ganzen Versuchsdauer die Ratten die gleiche Nahrung erhielten. Das Futter bestand in den Jahren

¹⁾ R. Allers, Zeitschr. f. d. ges. Neurol. u. Psychiatr., Ref. u. Erg., **19**; zit. nach Ber. über d. ges. Physiol. **1**, 62.

²⁾ N. Danoff, diese Zeitschr. **93**, 44.

1919/20 aus Brot und Milch, im Jahre 1921 bekamen die Tiere Mais und Milch. Sowohl die eine wie die andere Fütterungsart hat sich bewährt, wachsende Tiere haben sich bei dieser Nahrung gut entwickelt. Die Gaswechselversuche wurden ausnahmslos 15—18 Stunden nach der letzten Nahrungsaufnahme ausgeführt. Bei jeder Versuchsserie wurde zuerst der normale Ruheumsatz bestimmt. Erst wenn die einzelnen Versuche ziemlich gut miteinander übereinstimmende Zahlen ergeben haben, wurde mit der Zufuhr des zu prüfenden Präparates begonnen. Die Ruhewerte der Normalperiode schwankten um 0,2, höchstens um 0,3 g pro Kilo Körpergewicht und Stunde. Eine sorgfältige Bestimmung des normalen Ruheumsatzes ist unbedingt zu verlangen, sie gibt dann eine sichere Basis für die Beurteilung der Wirksamkeit des fraglichen Präparates. Die geprüften Substanzen wurden teils subcutan steril injiziert, teils wurden sie mit Hilfe einer feinen Sonde direkt in den Magen eingebracht.

Das Tyramin, Phenyläthylamin, Cholin, Acetylcholin, Adrenalin wurden mir von der Gesellschaft für Chemische Industrie in Basel („Ciba“) zur Verfügung gestellt, wofür ich auch an dieser Stelle danken möchte. Die Ungunst der Zeitverhältnisse, sowie die Schwierigkeit der Beschaffung der benötigten größeren Mengen von Histamin, Cholin, Acetylcholin u. a. haben mich verhindert, die an der Ratte gewonnenen Resultate am Hund, dem klassischen Tier für Stoffwechselversuche, zu überprüfen. Meine bisherigen Erfahrungen mit verschiedenen Thyroidepräparaten, Tyramin mit Phenyläthylamin sprechen aber dafür, daß ein wesentlicher Unterschied in der Beeinflussung des Stoffwechsels der Ratte und des Hundes nicht besteht.¹

1. Versuche mit Adrenalin.

Die Literaturangaben über die Stoffwechselwirkung des Adrenalins sind nicht ganz übereinstimmend¹). Bei Hungertieren fanden Eppinger, Falta, Rudinger nach Adrenalinzufuhr eine Erhöhung der Stickstoffausscheidung. Nach Falta wird unter dem Adrenalineinfluß nicht nur die Ausscheidung der Harnsäure, sondern auch die Allantoinausscheidung vermehrt. Fuchs und Róth²) führten nach dem Zuntz-Geppertschen Verfahren Gaswechseluntersuchungen an zwei normalen Individuen und an einer an Morbus Addisoni leidenden Frau aus. Nach Injektion von Adrenalin nahmen Kohlensäureausscheidung und Sauerstoffverbrauch zu. Bei den normalen Personen trat keine oder eine nur unbedeutende Erhöhung des Respirationsquotienten ein, bei der an Morbus Addisoni Kranken stieg dagegen der Respirationsquotient ganz bedeutend an. Die Wirkung des Adrenalins auf den Gaswechsel des Menschen wurde von Bernstein und Falta, vor kurzem auch von A. Bornstein³) untersucht. Diese Versuche Bornsteins wurden ebenfalls mit Hilfe des Zuntz-Geppertschen Apparates ausgeführt und ergaben eine beträchtliche Zunahme des Sauerstoffverbrauches. Eine Erhöhung der Sauerstoffaufnahme nach Adrenalininjektion fanden auch D. Marine und C. H. Lenhart⁴) an normalen und schilddrüsenlosen Kaninchen. Neben diesen Versuchen, in welchen die Adrenalinzufuhr eine Erhöhung des Gaswechsels zur Folge hatte, sind in der Literatur Angaben enthalten, wo durch Adrenalin eine Herabsetzung des Gaswechsels erzielt wurde. So fand P. Hári⁵) an curarisierten Hunden nach intraperitonealer und intravenöser Adrenalininjektion eine Ab-

¹) Vgl. M. Guggenheim, Die biogenen Amine. Berlin 1920, S. 262 ff.

²) D. Fuchs und N. Róth, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap., **10**, 187. 1912.

³) A. Bornstein, diese Zeitschr. **114**. 1921.

⁴) D. Marine und C. H. Lenhardt, Americ. Journ. of physiol. **54**, 248; zit. nach Chem. Centralbl. 1921 I, 593.

⁵) P. Hári, diese Zeitschr. **38**, 23.

nahme des Gaswechsels und eine Erhöhung des Respirationsquotienten. In zwei Versuchen von R. Isenschmidt¹⁾ am Kaninchen trat nach Injektion kleiner Adrenalinmengen in dem einen Fall eine Abnahme nur des Sauerstoffverbrauches und eine Erhöhung des Respirationsquotienten, im anderen Falle eine Abnahme sowohl des O₂ als des CO₂ ein. Über die Adrenalinwirkung auf den Gaswechsel, der Ratten orientieren folgende Versuche.

Versuch vom 29. VII. bis 9. VIII. 1921.

Wie aus der Tab. I ersichtlich, handelte es sich hier um ein Tier mit einem sehr konstanten Ruheumsatz. Die Zahlen der Normalperiode zeigen untereinander nur geringe Schwankungen. Der Mittelwert der Normalperiode beträgt pro Kilo und Stunde für CO₂ 2,30 g, für O₂ 2,24 g. Der Gaswechsel der Ratte ändert sich sofort, sobald man mit der Injektion von Adrenalin beginnt. In den ersten Stunden nach der subcutanen Einspritzung von 0,3 mg Adrenalin-HCl steigt der Gaswechsel ganz enorm an. Im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode tritt eine Zunahme der CO₂-Ausscheidung um 90%, des Sauerstoffverbrauches um 83% ein. Bemerkenswert und für die ganze Auffassung der Adrenalinwirkung wichtig ist die Tatsache, daß der Gaswechsel auch dann noch erhöht bleibt, wenn kein Adrenalin mehr zugeführt wird. Im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode ergibt der Mittelwert der Adrenalinperiode eine Erhöhung von 42% CO₂ und 39,3% O₂.

In der gleichen Tabelle ist noch ein Versuch an einer zweiten Ratte angeführt. Auch hier bewirkte die Adrenalininjektion eine starke Zunahme des Gaswechsels (vgl. Tab. Ia).

Versuch vom 11. I. bis 11. II. 1920.

In dem soeben beschriebenen Versuch kam das Tier kurz nach der Adrenalininjektion in den Versuchskasten. Man könnte geneigt sein, einen Teil der Erhöhung des Gaswechsels auf die Nebenerscheinungen, die sich unmittelbar an eine Adrenalinzufuhr anschließen, zurückzuführen. In den ersten Stunden nach Adrenaliningabe hat man bekanntlich erhöhte Herz- und Atemtätigkeit, der Gefäßtonus ändert sich. Diese Faktoren könnten den Gaswechsel etwas erhöhen, allerdings nicht bis zu 80—90%, wie in dem geschilderten Falle. Um diese Verhältnisse genauer zu verfolgen, wurde in dieser Versuchsreihe der Gaswechsel erst am nächsten Tage nach der Adrenalininjektion untersucht. Die unmittelbaren, augenfälligen Adrenalinsymptome sind zu dieser Zeit ganz abgeklungen. Verfolgt man die Zahlen der Tabelle II, so ergibt sich, daß während der Adrenalininjektionen der Gaswechsel des Tieres beinahe mit jedem Tage höher wird. Auch in dieser Versuchsserie bleibt der Gaswechsel auch dann noch erhöht, wenn die Adrenalinzufuhr längst aufgehört hat. Es ist dieses ein ganz typisches Verhalten, welches wir bei vielen, den Stoffwechsel erhöhenden Substanzen finden. Einen ganz ähnlichen Verlauf zeigt die Zunahme des Gaswechsels und der Stickstoffausscheidung unter dem Einfluß von Thyroidea oder von Tyramin und Phenyläthylamin. Diese Frage wurde bereits in der II. Mitteilung diskutiert und es wurde dort hervorgehoben, daß diese Tatsache gegen eine unmittelbare, sozusagen substantive Wirkung des fraglichen Molekuls selbst (Adrenalin, Thyroidea, Tyramin, Phenyläthylamin) spricht. Es ist auch im vorliegenden Versuch sicher befremdend von einer direkten Adrenalinwirkung 10—14 Tage nach der letzten Injektion von 0,6 mg dieser Substanz zu reden! Wir kommen bei einer solchen Annahme in Widerspruch mit dem ganzen chemischen Verhalten des Adrenalins in und außerhalb des Organismus. Gerade die leichte Zersetzlichkeit dieses Stoffes ist seine charak-

¹⁾ R. Isenschmidt, l. c.

Tabelle II. Wirkung des Adrenalins auf den Gaswechsel.
Ratte, Weibchen.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung	CO ₂ - Bil- dung	O ₂ - Auf- nahm.	R.-Q.	CO ₂	O ₂	CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Periode	% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ Im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode	Gewicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens
	1920		g	g	g		g	g		%	g	Std.	in °
193	11. I.	kein	0,58	1,60	1,59	0,731	2,97	2,95			119,80	4,5	20
194	12. I.	"	0,51	1,05	1,04	0,733	2,94	2,91			119,20	3	20
195	13. I.	"	0,31	0,96	0,94	0,742	2,71	2,66			117,80	3	20
196	14. I.	"	0,57	1,68	1,66	0,735	2,85	2,82			117,70	5	20-21
197	18. I.	"	0,35	1,46	1,42	0,747	2,89	2,81			112,4	4,5	20
198	19. I.	Subc. Inj. v. 0,3 cem Adrenal. 1:1000	—	—	—	—	—	—	2,87	2,83	—	—	—
199	20. I.	Inj. von 0,4 cem Adrenal. 1:1000	0,70	1,66	1,60	0,754	2,96	2,86			112,0	5	20-21,5
200	21. I.	" " 0,5 cem " 1:1000	—	—	—	—	—	—			—	—	—
201	22. I.	" " 0,4 cem " 1:1000	1,18	1,98	1,94	0,742	2,91	2,86			107,3	6,33	20-21
202	23. I.	" " 0,5 cem " 1:1000	1,33	2,51	2,51	0,726	3,01	3,01			101,10	8,25	21
203	24. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,47	1,04	0,95	0,795	3,30	3,01			105	3	21-22
204	25. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	—	—	—	—	—	—			—	—	—
205	26. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,57	0,91	0,86	0,769	3,08	2,91			98,40	3	20
206	27. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,44	1,06	1,04	0,740	3,26	3,20			100,2	3,25	20
207	28. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,52	1,00	0,99	0,734	3,31	3,28			109,70	2,75	21-22
208	29. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,48	1,12	1,02	0,798	3,46	3,15			107,80	3	21
209	30. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,73	1,62	1,60	0,735	3,19	3,15			111,5	4,75	21-22
210	31. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,70	1,20	1,09	0,800	3,75	3,41			106,5	3	21-22
211	32. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,67	1,35	1,26	0,778	3,78	3,53			111,6	3,2	21-22
212	33. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,66	2,46	2,42	0,738	3,85	3,29			122,4	6	20-21
213	34. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	0,55	1,26	1,22	0,750	3,50	3,39			119,90	3	21-22
214	35. I.	" " 0,6 cem " 1:1000	—	—	—	—	—	—	3,80	3,16	15	—	—

teristische Eigenschaft. Es ist vielmehr wahrscheinlich, daß Adrenalin und die anderen ihm verwandten Substanzen an Orten angreifen, deren Erregung die unmittelbare Wirkung des fraglichen Moleküls weit überdauert und daß diese Apparate erst allmählich zu ihrem früheren Zustand zurückkehren. Hand in Hand mit diesem veränderten Verhalten der angegriffenen Apparate ändern sich die Stoffwechselprozesse im Organismus. Welcher Natur diese Apparate sind, können wir mit Bestimmtheit nicht sagen. Auf das Vorhandensein solcher Apparate weisen aber die vorliegenden Versuche hin. Und da das Adrenalin und die anderen geprüften Stoffe am sympathischen Nervensystem angreifen, so wird man berechtigt sein, diese regulierenden Stoffwechselmechanismen in das Gebiet des vegetativen Nervensystems zu verlegen. Es muß versucht werden, noch weitere Anhaltspunkte für diese Annahme experimentell zu gewinnen.

Der Adrenalinversuch vom 26. VII. bis 8. VIII. 1921 (Tabelle III).

ergibt das gleiche Resultat wie die früheren Versuche. Auch hier verursachen die Adrenalininjektionen eine Steigerung des Gaswechsels bis zu 90%. Nicht uninteressant ist der Vergleich der Versuche vom 1. und 8. VIII. Hier hat die gleiche Dosis Adrenalin ganz verschiedene Wirkungen gehabt. Es ist dies eine Erscheinung, die man hier und da sieht. Im allgemeinen kann man sagen, daß bei häufigerem Gebrauch selbst der wirksamsten Stoffe ihr Effekt immer schwächer wird. Es ist das eine aus der Therapie bekannte Erfahrung, sie ist auch besonders bei den Ratten zu finden — Tieren, welche eine außerordentliche Resistenz den aller- verschiedensten Giften gegenüber aufweisen. Dosen von Schilddrüse, von Atropin, von Morphin usw., welche andere Tierarten stark schädigen oder sogar umbringen, werden von den Ratten anstandslos ertragen. Trotz der bei all meinen Versuchen angewandten, für andere Tiergattungen sicherlich hohe Dosen, ist mir keine Ratte an einer Vergiftung verstorben. Für die Ratten sind die hier gebrauchten Mengen von Adrenalin, Atropin, Pilocarpin usw. nicht zu hoch, sie liegen noch weit entfernt von der Dosis letalis. Diese Resistenz wirksamen Stoffen gegenüber macht darum die Ratte sehr geeignet für Stoffwechselversuche.

Sowohl bei dieser als auch bei den früheren Versuchsserien mit Adrenalin ist noch das Verhalten des respiratorischen Quotienten bemerkenswert. Im großen und ganzen hat sich der Respirationsquotient nach Adrenalinzufuhr nicht geändert. Diese Tatsache ist auffallend, da Glykogenmobilisierung und Hyperglykämie als konstanteste Adrenalinwirkungen aufgefaßt werden. In denjenigen Versuchen, wo die Tiere kurze Zeit nach der Adrenalininjektion in den Versuchskasten kamen, ist die Glykogenausschwemmung während dieser Zeitperiode sicher vorauszusetzen. Doch trat keine erhöhte Verbrennung von Zucker ein, denn eine solche müßte ja den Respirationsquotienten erhöhen. Auch in dieser Beziehung steht das Adrenalin nicht einzig da. Wie bereits in der Einleitung erwähnt, bedingen die meisten der hier untersuchten Substanzen neben der Stoffwechselsteigerung auch eine Glykogenmobilisierung und Hyperglykämie. Aber auch bei diesen Substanzen gibt das Verhalten des Respirationsquotienten keinerlei Anhaltspunkte für diese erhöhte Zuckerverbrennung. Es ist interessant festzustellen, daß wir ähnliche Verhältnisse auch beim Menschen antreffen. Durch gleichzeitige Bestimmung des Blutzuckers und des Gaswechsels hat vor einigen Monaten A. Bornstein (l. c.) gefunden, daß die Adrenalinhyperglykämie nicht mit einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung verbunden war.

In dieser Serie wurden noch zwei Versuche mit Adrenalineingabe per os ausgeführt. Es ist von den Produkten der Drüsen mit innerer Sekretion bekannt,

Tabelle III. Wirkung des Adrenalins auf den Gaswechsel.
Ratte, Weibchen.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung	CO ₂ - Bil- dung	O ₂ - Auf- nahm.	CO ₂ O ₂ pro Kilo u. Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode	Ge- wicht des Ratte auch	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens	Bemerkungen
	1921		g	g	K	g	%	g	Std.	in °	
211	26. VII.	nicht.	1,81	2,45	2,41	2,22		186,3	8,1	25—26	
212	27. VII.	kein	1,05	1,78	1,59	2,46		188,7	5,25	27	
213	28. VII.	"	0,65	1,17	1,12	2,22		181,6	4	27—28,5	
214	29. VII.	"	0,49	0,58	0,91	2,80		181,8	8,25	28—27	
215	1. VIII.	1/2 Std. vor dem Versuch 0,5 mg Adrenalin-HCl- "Ciba" subc.	0,56	1,95	1,88	4,39	4,12				
216	4. VIII.	1/2 Std. vor dem Versuch 1 mg Adrenalin-HCl subc.	0,65	2,02	1,94	3,60	3,46	90,9	128,9	3,5	25—26
217	5. VIII.	1 mg Adrenalin-HCl subc.	—	—	—	—	—	60	124,6	4,5	25
218	8. VIII.	kein	0,57	1,04	1,01	2,88	2,81		108,1	4	24—26,5
		1/4 Std. vor dem Ver- such 0,5 mg Adrenalin- "Ciba" subc.	0,59	0,97	0,83	2,00	1,75		118,5	4	26—27
219	30. VII.	3/4 Std. vor dem Versuch 2 mg Adrenalin hydr.	0,54	0,92	0,94	1,74	1,77				Im Kasten viel Harn. Der Harn enth. Zucker. Am nächsten Morgen (8.VIII.) war kein Zucker im Harn nach- zuweisen.
220	8. VIII.	1/2 Std. vor dem Versuch 1 mg Adrenalin hydr. per os	0,56	1,80	1,24	2,61	2,02	-21,35	182,3	4	25
								-12	128,7	5	25—26,5
Tabelle IIIa.											
	1922										
11. II.	"	kein	0,54	1,41	1,44	4,10	4,18		86,0	4	20—21
14. II.	"	"	1,13	2,87	2,37	4,13	4,18		88,2	6,5	20—21
15. II.	"	3/4 Std. vor dem Versuch 0,5 mg Adrenalin hydr.	0,43	1,29	1,27	3,65	3,60		88,2	4	20
16. II.	"	per os 1 Std. vor dem Versuch 1,1 mg Adrenalin hydr.	0,51	1,21	1,21	3,21	3,21		88,8	4,5	19—21
17. II.	"	per os kein	0,87	0,99	0,96	3,98	3,27		78,2	8,75	19—20

Tabelle IV.
Wirkung der ploralen Eingabe von Thyramin und Phenyläthylamin auf den Gaswechsel.
Ratte, Weibchen.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O-Bil-		CO ₂ -Bil-		O ₂ -Auf-	R.-Q.	CO ₂ : O ₂		CO ₂ pro Kilo und Stunde während der einzelnen Perioden	% -Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens	Bemerkungen
			g	g	g	g			g	g		%	%				
1921																	
221	7. II.	nüchtl.	kein	1,27	2,76	2,76	2,76	0,726	3,05	3,05				116,80	7,75	21	
222	8. II.	"	"	0,57	1,81	1,75	0,751	3,20	3,08	3,08				119,5	4,75	20—21	
223	9. II.	"	"	0,47	1,10	1,07	0,747	2,98	2,83	2,83				116,2	3,25	20	
224	10. II.	"	"	0,75	1,86	1,78	0,759	3,02	2,89	2,89				117,20	5,25	20—21	
225	11. II.	"	"	0,22	1,00	0,97	0,749	2,83	2,74	2,74				114,0	3,1	21—22	
—	12. II.	40 mg Tyramin-HCl per os		—	—	—	—	—	—	—	3,02	2,92		—	—	—	
226	14. II.	"	"	0,42	1,10	1,05	0,761	3,10	2,96	2,96				118,1	3	21	
—	15. II.	70 mg Tyramin-HCl per os		—	—	—	—	—	—	—				—	—	—	
227	16. II.	"	"	0,40	1,10	1,10	0,726	3,11	3,11	3,11				117,70	3	20	
228	17. II.	"	"	0,35	1,16	1,12	0,752	2,97	2,87	2,87				120	3,25	20	
229	18. II.	"	"	—	—	—	—	—	—	—				—	—	—	
230	19. II.	"	"	0,52	1,95	1,94	0,730	2,87	2,85	2,85				118,20	5,75	20—20,5	
231	22. II.	"	"	0,53	2,03	1,95	0,756	2,96	2,84	2,84				119,30	5,75	19,5—20,5	
232	23. II.	"	"	0,66	1,83	1,70	0,782	3,21	2,98	2,98				114,20	5	19—20	
—	—	am 19. II. 95 mg Tyra- min-HCl per os		—	—	—	—	—	—	—				—	—	—	
—	—	am 22. II. 95 mg Tyra- min-HCl per os		—	—	—	—	—	—	—				—	—	—	
—	—	am 23. II. 95 mg Tyra- min-HCl per os		—	—	—	—	—	—	—				—	—	—	

232	24. II.	"	0,65	1,52	1,47	0,751	2,97	107,90	4,75	20
233	25. II.	"	0,89	2,16	1,75	0,896	3,01	114,70	6,25	21—22
234	26. II.	"	0,18	0,93	0,93	0,726	2,78	107,9	3,1	19—20
235	1. III.	"								
236	2. III.	"								
237	3. III.	"								
238	4. III.	"								
239	5. III.	"								
240	7. III.	"								
241	9. III.	"								
242	10. III.	"								
243	11. III.	"								
244	14. III.	"								
245	15. III.	"								
246	16. III.	"								
247	17. III.	"								
248	18. III.	"								
249	22. III.	"								

daß ihre Wirkung von der Applikationsart abhängt. Zur Überprüfung der beim Tyramin und Phenyläthylamin gewonnenen Ergebnisse wurde das Adrenalin zweimal per os gegeben. In beiden Fällen trat eine Senkung des Gaswechsels auf, ein Verhalten, welches wir auch bei den genannten proteinogenen Aminen finden (vgl. weiter unten). Zu einem ähnlichen Ergebnis führte auch in die Tabelle IIIa zusammengefaßte Versuchsreihe. Ein und derselbe Stoff kann also bei abgeänderten Bedingungen ganz verschieden wirken: in einem Falle eine Erhöhung des Gaswechsels um 90%, im anderen eine Abnahme desselben von 20–25%. Zur Erklärung dieses Phänomens kann man annehmen, daß bei der Eingabe per os die Hauptmenge des Adrenalins zerstört wird und daß nur ganz geringe Adrenalinmengen zur Resorption gelangen. Die Senkung des Gaswechsels wäre dann der Ausdruck einer inversen Wirkung kleiner Adrenalin Dosen. Eine solche Umkehr der Wirkung bei Anwendung minimaler Adrenalin konzentrationen ist bei verschiedenen Versuchen mehrfach beobachtet (H. Dale, R. G. Pearce, H. Streuli, Kolm und Pick, Amsler u. a.). Es müßten Stoffwechselversuche mit ganz geringen Adrenalinmengen angestellt werden. Eine experimentelle Bearbeitung dieser Frage lag aber außerhalb meines Versuchsplanes.

Finden wir nun, daß nach Adrenalinzufuhr die Stoffwechselvorgänge stark beeinflußt werden, so ist damit ein weiterer Beweis geliefert, daß auch physiologischerweise dem Adrenalin nicht nur eine Wirkung auf Herztätigkeit, Gefäßtonus, Blutdruck, Kohlenhydratumsatz usw. zukommt, sondern daß dieser Stoff auch regen Anteil an der Regulierung der Stoffwechselprozesse des Gesamtorganismus nimmt. Wir haben hier eine physiologische Substanz vor uns, deren Stoffwechselwirkung derjenigen der Schilddrüse kaum nachsteht. Die nahen Beziehungen dieser beiden Organe zueinander und ihre Bedeutung für den Stoffwechsel lassen sich nicht bestreiten.

2. Versuche mit Tyramin und Phenyläthylamin.

A. Über Versuche mit diesen Substanzen wurde bereits in der II. Mitteilung ausführlich berichtet. Wenn nun weitere Versuche mit Tyramin und Phenyläthylamin angestellt wurden, so geschah dieses, um noch einige Punkte aufzuklären. Zuerst wurde geprüft, ob diese Amine den Stoffwechsel auch dann beeinflussen, wenn sie nicht subcutan, sondern per os eingeführt werden. Durch perorale Zufuhr von Tyramin allein wurde der Gaswechsel nicht geändert (vgl. Versuche 221 bis 235, Tab. IV). Dagegen konnte beim gleichen Tier durch gleichzeitige stomachale Eingabe von Tyramin und Phenyläthylamin der Gaswechsel deutlich gesteigert werden, und zwar im Mittel um 16–26% für CO_2 und 11–26% für Sauerstoff. Der Respirationsquotient war in einigen Versuchen auffallend hoch (vgl. Versuche 238 und 241).

Ein übereinstimmendes Resultat ergaben auch Versuche an einer anderen Ratte. Auch hier begann nach peroraler Tyramin- und Phenyläthylaminzufuhr der Gaswechsel zu steigen. Aus äußeren Gründen konnte diese Versuchsserie nicht weiter ausgedehnt werden. Aber auch in dieser relativ kurzen Zeit nahm der Sauerstoffverbrauch um 16,9–24,20% und die Kohlensäureausscheidung um 12,2–21,3% zu. Im Mittel erhält man eine Steigerung von 13,4% für CO_2 und von 15,7% für O_2 .

Tyramin und Phenyläthylamin erweisen sich also auch dann als wirksam, wenn sie per os eingeführt werden. Doch sind die Verhältnisse bei peroraler Eingabe komplizierter als es den Anschein macht. Die Dosierung, die gegen-

Tabelle V. Wirkung der peroralen Eingabe von Tyramin und Phenyläthylamin auf den Gaswechsel.
Weiße Ratte, Männchen.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme	R.-Q.	CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		(Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Kastens
			g	g	g	g			g	g	%	%					
250	4. XII.	keine	0,76	1,12	1,07	0,760			2,47	2,36					150,8	3	20
251	9. XII.	"	0,63	1,79	1,79	0,726			2,37	2,37					159,1	4,75	20
252	11. XII.	"	0,75	1,33	1,26	0,767			2,73	2,58					162,4	3	19—20
253	14. XII.	"	0,79	2,18	2,00	0,791			2,57	2,36	2,53	2,42			166,0	5,1	18,8
254	17. XII.	3 1/2 Stunden v. Versuchsbeginn 0,04 g Tyramin-HCl + 0,04 g Phenyläthylamin-HCl per os	0,48	1,56	1,57	0,722			2,57	2,58					161,7	3,75	20
18. XII.		Tyramin-HCl + Phenyläthylamin-HCl aa 0,03 g per os	—	—	—	—			—	—					—	—	—
255	20. XII.	"	1,20	4,14	4,12	0,730			2,84	2,83			12,25	16,9	171,3	8,5	18—20
21. XII.		Tyramin-HCl + Phenyläthylamin-HCl aa 0,045 g per os	—	—	—	—			—	—					—	—	—
256	22. XII.	"	0,84	2,39	2,31	0,752			2,99	2,88			18,2	19	168,8	4,75	20—21
22. XII.		Tyramin-HCl + Phenyläthylamin-HCl aa 0,05 g per os	—	—	—	—			—	—					—	—	—
257	23. XII.	"	0,41	1,39	1,36	0,742			3,07	3,01	2,87	2,80	21,34 (13,4)	24,21 (15,7)	164,4	2,75	20

266	26. XI.	"	20 mg Tyramin-HCl + 20 mg Phenyl- äthylamin-HCl per os	0,23	1,24	1,06	0,850	3,28	2,80	—	—	—	16—17	
	27. XI.	"		—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
267	27. XI.	"		0,32	1,19	1,14	0,758	2,90	2,78	126	3,25	17		
268	28. XI.	"		0,25	1,14	1,05	0,789	3,09	2,84	123	3	17,5		
269	29. XI.	"		0,19	1,07	0,96	0,810	3,00	2,69	119	3	17		
	29. XI.	"	50 mg Tyramin-HCl + 20 mg Phenyl- äthylamin-HCl per os	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
		"	kein	0,22	1,14	1,03	0,804	3,19	2,88	119	3	17		Mittlerer R.-Q. = 0,800
270	30. XI.	"		0,24	1,19	1,03	0,841	3,30	2,86	120	3	17		
271	2. XII.	"	"	0,43	1,90	1,76	0,784	3,14	2,91	121	5	17,0—17,5		
272	3. XII.	"	"	0,41	1,73	1,47	0,855	3,40	2,89	127	4	17—18		
273	4. XII.	"	"	0,51	2,11	1,93	0,794	3,11	2,85	129	5,25	18		
274	5. XII.	"	"	0,43	1,77	1,59	0,809	2,98	2,68	125	4,75	18		
275	6. XII.	"	"	0,38	1,30	1,11	0,851	3,26	2,78	133	3	18		
276	7. XII.	"	30 mg Tyramin-HCl + 30 mg Phenyl- äthylamin-HCl per os	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Mittlerer R.-Q. = 0,822
	8. XII.	"		0,21	1,22	1,18	0,751	3,03	2,93	134	3	18		
277	9. XII.	"	50 mg Tyramin-HCl + 20 mg Phenyl- äthyl-HCl per os .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	Harnausscheid. stark vermehrt
	9. XII.	"		0,18	1,10	1,03	0,776	2,78	2,60	132	3	18		
278	10. XII.	"		0,13	2,82	—	—	—	—	3,13	2,82	—	—	3,90—10,2

seitigen Mengenverhältnisse von Tyramin und Phenyläthylamin, die Dauer der Eingabe usw. usw. sind für den Ausfall des Versuches wesentlich. Es soll hier als Beispiel eine Versuchsreihe aus dem Jahre 1918 angeführt werden, in welcher erstens, die gebrauchten Mengen von Tyramin und Phenyläthylamin kleiner waren; zweitens, die Präparate kürzere Zeit eingegeben wurden (vgl. Tab. V). In diesem Falle trat eine geringe Senkung des Gaswechsels ein, — also eine Erscheinung, wie wir sie bei den peroralen Versuchen mit Adrenalin fanden (vgl. Versuche 219, 220). Daneben trat auch eine Erhöhung des Respirationsquotienten ein. Während in der Normalperiode der Respirationsquotient den gewöhnlichen Nüchternwert von etwa 0,75 aufweist, findet man in der Versuchsperiode Tage, in welchem der Respirationsquotient im Nüchternzustand 0,85 beträgt. Auch die mittleren Respirationsquotienten der Versuchsperiode sind höher als der mittlere Respirationsquotient der Normalperiode. Die Erhöhung des Respirationsquotienten ist durch eine erhöhte Kohlenhydratverbrennung zu erklären.

Warum aber nur die perorale Zufuhr kleiner Tyramin-Phenyläthylaminmengen eine erhöhte Zuckeroxydation veranlaßt, während die subcutane Injektion dieser Präparate den Respirationsquotienten nicht oder nur ganz unbedeutend beeinflußt, läßt sich hier ebenso wie beim Adrenalin nicht sagen.

Der Einfluß der peroralen Zufuhr von Tyramin und Phenyläthylamin auf den Gaswechsel wurde noch an einem schilddrüsenlosen Hund studiert.

Die ganze Versuchstechnik ist von de Corral¹⁾ und in der II. Mitteilung genau beschrieben. Der kleine Respirationskasten wurde an den Jaquetschen Apparat angeschlossen, die Luftproben wurden mit Hilfe des Haldaneapparates analysiert. Eine Betrachtung der Tabelle VII ergibt nun wieder die 3 charakteristischen Momente: 1. Abnahme des Gaswechsels mit dem Beginn der peroralen Tyramin- und Phenyläthylamineingabe; 2. gleichzeitige Erhöhung des Respirationsquotienten; 3. Fortbestehen dieser Wirkungen auch nach Aussetzen der Präparate. Analoge Erscheinungen wie bei den Versuchen an den Ratten (vgl. Tabelle VI).

Der Respirationsquotient der Normalperiode ist in den Versuchen vom 7. und 10. V. zu tief. Zu niedrige Respirationsquotienten findet man beim Hund nicht selten²⁾. Es ist aber sehr auffallend, 1., daß nach Beginn der Tyramin- und Phenyläthylaminzufuhr solche niedrige Werte des Respirationsquotienten nie mehr vorkamen und 2., daß auch nach der Eingabe von 100 g Rohrzucker der Respirationsquotient nur auf 0,861 gestiegen ist. Man könnte auch hier einen höheren Wert erwarten. Ob diese Verhältnisse mit dem Fehlen der Schilddrüse beim Tier in Zusammenhang zu bringen sind, habe ich nicht genauer erforscht. Auch in der Literatur habe ich keine Angaben darüber gefunden. Die Versuchsergebnisse werden aber dadurch wenig getrübt und die Veränderung im Gaswechsel während der Zufuhr der Amine ist nicht zu verkennen.

¹⁾ J. de Corral, diese Zeitschr. **86**. 1918.

²⁾ Vgl. darüber: de Corral, l. c.; Hári, diese Zeitschr. **89**; Kelemen, diese Zeitschr. **89**; u. a.

Tabelle VII. Respiratorischer Gaswechsel. Schilddrüsenloser Jagdhund.
Tägliche Nahrung: 400 g Pferdefleisch + 50 g Fett + Salzmischung.

Datum	Präparat	Stunde nach der letzten Nahrungsaufnahme		Dauer des Respirationsversuches in Std.	Ventilation der Kammer pro Std. in Lit. (reduziert)	Luftanalyse		CO ₂ Produktion		O ₂ -Verbrauch		R.-Q.	CO ₂ Ausscheid.	O ₂ Verbrauch
						CO ₂ %	O ₂ %	pro Std. in Lit.	pro kg u. Min. in ccm	pro Std. in Lit.	pro kg u. Min. in ccm		pro Kilo u Minute im Mittel während der einz. Periode. in ccm	
1918														
1. V.	kein	17	19	2	630,2	0,624	20,078	3,74	4,80	5,87	7,53	0,64 ^{*)}		
3. V.	2 Std. vor dem Versuch 100 g Rohrzucker per os													
7. V.	kein	17-21	4	403,62	1,179	19,645	4,61	5,94	5,38	6,90	0,861			
8. V.	"	18-21	3	683,05	0,549	20,17	3,54	4,54	5,39	6,91	0,66			
10. V.	"	18-21	3	617,52	0,66	20,10	3,89	5,03	5,22	6,75	0,744			
23. V.	0,5 g Tyramin-HCl + 0,5 g Phenyläthylamin per os	18-21	3	559,58	0,65	20,01	3,47	4,43	5,39	6,89	0,643		4,66	6,85
24. V.	"													
24. V.	0,5 g Tyramin-HCl + 0,5 g Phenyläthylamin per os	16-19	3	654,97	0,545	20,24	3,37	4,24	4,58	5,76	0,736			
25. V.	"													
26. V.	0,5 g Tyramin-HCl + 0,5 g Phenyläthylamin per os	16-19	3	559,58	0,64	20,14	3,39	4,20	4,51	5,60	0,751			
27. V.	"													
4. VI.		16-19	3	630,80	0,45	20,38	2,63	3,23	3,42	4,19	0,769			
5. VI.		18-21	3	620,67	0,54	20,33	3,16	3,81	3,95	4,77	0,799			
10. VI.	0,5 g Tyramin-HCl + 0,5 g Phenyläthylamin + 0,5 g Isoamylamin per os	18 ^{1/2}	3	723,34	0,48	20,44	3,30	4,04	3,68	4,51	0,896			
11. VI.	"													
12. VI.	0,3 g Tyramin-HCl + 0,3 g Phenyläthylamin + 0,3 g Isoamylamin per os	18	3	717,39	0,49	20,39	3,36	4,12	4,11	5,04	0,816			
12. VI.	"													
13. VI.	"	18	3	661,5	0,55	20,28	3,43	4,10	4,64	5,56	0,738			
		18	3	650,42	0,60	20,30	3,71	4,44	4,92	5,18	0,857		4,02	5,08

^{*)} Dieser Versuch wurde nicht mitgerechnet, weil das Tier sehr unruhig war.

Um die Ausführung der Gasanalysen sowie die ganze Apparatur zu kontrollieren, wurde ein Alkoholverbrennungsversuch ausgeführt.

Kontrollversuch mit Alkoholverbrennung.

I. VI. 1918. Das spezifische Gewicht des absoluten Alkohols wurde nach der Formel

$$d_{4^{\circ}}^{t^{\circ}} = \frac{m}{w} (Q - i) + i$$

bestimmt¹⁾.

$t^{\circ} = 19,6^{\circ}$; m (Gewicht des Alkohols im Pyknometer) = 15,8933 g;

w (Gewicht des Wassers im Pyknometer) = 19,9879 g;

Q (Gewicht von 1 ccm Wasser bei $19,6^{\circ}$) = 0,9984 g;

i (Dichte der Luft bei Zimmertemperatur und mittlerer Feuchtigkeit) = 0,0012.

Aus diesen Daten ergibt sich das spezifische Gewicht des Alkohols = 0,79407. Der Alkoholgehalt beträgt dann 99,98%. Von diesem Alkohol wurden im Versuchskasten 6,51 g verbrannt. Ventilation: 2047,37 l (nicht reduziert) = 1788,5 l reduziert.

Analyse der Luftproben:

CO₂: 0,3699% I

0,3600% II

Mittel: 0,365%.

O₂: 20,475% I

20,472% II

Mittel: 20,473%.

Die gesamte Kohlensäurebildung beträgt 5,9895 l, der gesamte Sauerstoffverbrauch 8,9692 l. Der Respirationsquotient des Alkohols wurde demnach als 0,668 bestimmt, also der theoretische Wert. Die absoluten Mengen der gebildeten Kohlensäure und des verbrauchten Sauerstoffs sind aber etwas zu niedrig. Es ergibt sich für Kohlensäure ein Defizit von 0,3395 l (5,37%) und für Sauerstoff 0,5218 l (5,49%). Diese Verluste sind darauf zurückzuführen, daß beim Anzünden des Alkohols der Kasten geöffnet werden mußte. Eine andere Vorrichtung stand nicht zur Verfügung. Außerdem könnte auch der Alkohol nicht vollständig verbrannt sein. Jaquet behauptet, daß Fehler bis zu 5% keine große Bedeutung haben. Es ist aber nicht zu zweifeln, daß bei rationeller Methodik die Fehlergrenze sich noch herunterdrücken läßt. Bei Grafe beträgt der Fehler nur 0,93%. Seine Bestimmungen wurden aber nach der viel genaueren Methode von Atwater und Benedikt ausgeführt.

Dieser Alkoholverbrennungsversuch spricht dafür, daß bei den Respirationsversuchen am Hund grobe Fehler nicht vorlagen, und daß unter dem Einfluß von Tyramin und Phenyläthylamin tatsächlich eine Änderung im Gaswechsel des Tieres eintrat.

B. In den Versuchen 236–249, Tabelle IV hat das Phenyläthylamin die Wirkung des Tyramins sehr stark beeinflusst. Während Tyramin allein den Gaswechsel unbeeinflusst ließ, trat unter gleichzeitiger Zufuhr von Tyramin und Phenyläthylamin eine deutliche Änderung des Stoffwechsels ein. Ähnliche Beobachtungen wurden seinerzeit an der Kaninchenblase gemacht. Injiziert man einem Kaninchen Tyramin und Phenyläthylamin in Mengen, welche einzeln genommen unwirksam sind, so tritt eine starke und langdauernde Tonuszunahme der Blase

¹⁾ Biehringer, Handb. d. biochem. Arbeitsmeth. 1, 439ff. 1910.

ein¹⁾. Tyramin und Phenyläthylamin potenzieren sich in ihrer Wirkung im Sinne Bürgis²⁾. Es tauchte die Frage auf, ob es nicht gelingt, die Tyramin + Phenyläthylaminwirkung durch gleichzeitige Darreichung anderer, das sympathische Nervensystem angreifender Stoffe zu verstärken. In erster Linie mußte dabei an die Schilddrüsenprodukte gedacht werden, als Stoffen, welche physiologisch wichtig sind und von denen man annimmt, daß sie das sympathische Nervensystem beeinflussen. Es wurden zu diesem Zwecke Versuche angestellt, in welchen ganz geringe, an und für sich unwirksame Mengen von Tyramin + Phenyläthylamin zusammen mit ebenfalls ganz geringen Mengen von Schilddrüse gegeben wurden. Als Schilddrüsensubstanz wurden die Tabletten von Burroughs Wellcome & Co. benutzt. Der Ausfall dieser Versuche ist aus den Tabellen VIII und IX ersichtlich. Besonders instruktiv sind die gewonnenen Zahlen, wenn man sie mit den Daten der Tabellen IV und V vergleicht, wo bedeutend größere Mengen von Tyramin und Phenyläthylamin zur Anwendung kamen. Die Resultate lassen keinen Zweifel darüber, daß die genannten proteinogenen Amine und die Schilddrüsenstoffe sich gegenseitig in ihrer Wirkung auf den Gaswechsel außerordentlich verstärken. Durch gleichzeitige Eingabe beider Stoffgruppen lassen sich die Dosen der einzelnen Präparate sehr weit herabsetzen. Es ist dieser Befund insofern nicht ohne praktisches Interesse, als in der Schilddrüsen-therapie durch diese Kombination die Thyreoideamengen ganz erheblich herabgesetzt werden könnten.

Legt man sich die Frage vor, warum diese proteinogenen Amine und die Schilddrüsenstoffe sich gegenseitig in ihrer Wirkung so mächtig verstärken, so wird man wohl auch hier an ihre gemeinsame Einwirkung auf das sympathische Nervensystem denken müssen. Um zu prüfen, ob sich dieser Gedanke auch experimentell stützen läßt, wurden Versuche in folgender Richtung ausgeführt.

Kurz nach Injektion von bestimmten Quantitäten Tyramin und Phenyläthylamin stellen sich bei den Tieren die bekannten Symptome der sympathischen Erregung ein. Die Tiere werden für kurze Zeit unruhig, die Atemfrequenz wächst stark an, der Blutdruck geht in die Höhe usw. Für den Beobachter ist besonders die Atemveränderung auffallend und leicht zu verfolgen. Sie gibt ein grobes, aber doch übersichtliches Bild vom Grad der Erregung des sympathischen Nervensystems. Der Versuchsplan ging dahin, ganz kleine, an und für sich unwirksame Tyramin- und Phenyläthylaminmengen einerseits normal gefütterten, andererseits mit Schilddrüsensubstanz vorbehandelten Ratten zu injizieren. Tritt auch hier bei den sichtbaren Erregungssymptomen, deren sympathische Natur außer Zweifel steht, eine gegenseitige Verstärkung beider Mittel ein? Die Versuche beantworten

¹⁾ J. Abelin, Zeitschr. f. Biol. **69**, 404. 1919.

²⁾ E. Bürgi und Mitarbeiter. Zusammenfassend: Darstellung: E. Bürgi, Dtsch. med. Wochenschr. 1910, Nr. 1—2; Berl. klin. Wochenschr. 1911.

Tabelle VIII.

Wirkung der gleichzeitigen Zufuhr kleiner Mengen von Tyramin, Phenyläthylamin und Schilddrüse auf den Gaswechsel.
Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme		R.-Q.		CO ₂ pro Kilo und Stunde		O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% -Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Ge- wicht des Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Kastens	Bemerkung	
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%	%	g	Std.	in °					
1921																							
279	26.V.	nücht.	0,32	1,32	1,31	0,732	2,97	2,95											118,30	3,75	22		
280	27.V.	"	0,47	2,00	1,97	0,738	2,82	2,78											118,10	6	22		
281	31.V.	"	0,24	1,03	1,05	0,713	2,77	2,82											120,0	3,1	20—21		
282	1.VI.	"	0,47	1,46	1,46	0,726	2,84	2,84											114,30	4,5	22		
283	3.VI.	"	0,50	1,28	1,27	0,726	2,80	2,80											114,50	4	22—23		
284	4.VI.	"	0,40	1,25	1,15	0,789	2,90	2,67											114,9	3,75	23		
285	7.VI.	"	0,35	1,05	0,88	0,867	3,05	2,50											118,8	2,9	22		
286	8.VI.	"	0,35	1,50	1,38	0,789	2,88	2,65											122,60	4,25	23		
287	10.VI.	"	0,51	1,56	1,56	0,726	2,71	2,71											121	4,75	22—23		
288	11.VI.	"	0,25	1,05	1,04	0,733	2,68	2,65											112	3,5	22		
289	13.VI.	"	0,77	1,52	1,37	0,806	2,80	2,52											114,40	4,75	22,5		
290	17.VI.	"	0,18	1,41	1,34	0,764	2,71	2,58											115,5	4,5	22		
291	20.VI.	"	0,16	1,00	0,97	0,749	2,86	2,77											116,6	3,0	21—22		
	23.VI.	"	5 mg Tyramin + 5 mg Phen.-äth.-HCl + 10 mg Thyroid Welle. per os																				
	24.VI.	"	2,5 mg Tyram. + 2,5 mg Phen.-äth.-HCl + 15 mg Thyroid Welle. per os																				
	25.VI.	"	2,5 mg Tyram. + 2,5 mg Phen.-äth.-HCl + 9 mg Thyroid Welle. per os																				
292																							
293	27.VI.	"	0,87	2,93	2,54	0,838	2,97	2,58											123,4	8	22		
	28.VI.	"	0,58	1,68	1,66	0,735	2,82	2,78											119,0	5	23		
294	29.VI.	"	0,72	1,35	1,22	0,804	2,68	2,42											118,5	4,25	23—24		

295	30.VI.	Unmittelbar vor d. Vers.: 2,5 mg Tyramin + 2,5 mg Phen.-äth.-HCl + 10 mg Thyreoid Wellc. per os 5 mg Tyramin + 5 mg Phen.-äth.-HCl + 10 mg Thyreoid Wellc. per os	1,04	2,04	1,80	0,823	2,66	2,35	115,10	6,66	24—25	
296	1.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
297	2.VII.	1. Std. v. d. Vers.: 5 mg Tyramin + 5 mg Phen.- äth.-HCl + 10 mg Thy- reoid Wellc. per os . . .	0,28	1,27	1,17	0,788	3,01	2,77	120,5	3,5	24	
298	4.VII.	Am 6.VII.: 5 mg H-Tyr. + 5 mg Phen.-äth.-HCl subc. 10 mg Thyreoid Wellcome per os . . .	0,58	1,85	1,78	0,755	3,03	2,92	121,9	5	22—23	
299	5.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
300	7.VII.		0,35	1,31	1,27	0,749	2,71	2,63	120,9	4	22	
301	8.VII.	2,5 mg T. + 2,5 mg Phen.- äth.-HCl subc. + 10 mg Thyr. Wellc. per os . .	0,55	2,28	1,87	0,886	3,33	2,73	124,3	5,5	22—23	
302	9.VII.		0,49	1,71	1,66	0,748	3,25	3,17	119,3	4,5	22—23	
303	12.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
304	14.VII.	5 mg Tyramin + 5 mg Phen.-äth.-HCl + 25 mg Thyreoid Wellc. per os	1,72	2,16	2,11	0,744	2,87	2,80	116,0	6,5	22—23	
305	15.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
306	18.VII.	2,5 mg Tyramin + 2,5 mg Phen.-äth.-HCl + 10 mg Thyreoid Wellc. per os	0,64	1,59	1,45	0,796	3,99	3,64	113,8	3,5	25	
307	20.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
308	22.VII.	Dgl. + 15 mg Thyreoid Wellc. per os . . .	0,81	1,98	1,96	0,734	3,22	3,19	111,8	5,5	25—26	
309	23.VII.		—	—	—	—	—	—	—	—	—	
310	25.VII.		0,48	1,49	1,49	0,726	4,46	4,46	57	62,2	3	25
311		Dgl. + 15 mg Thyreoid Wellc. per os . . .	—	—	—	—	—	—	—	—	—	
312		kein	0,56	1,48	1,47	0,731	4,09	4,08	44,01	47,60	3	23—24
313		"	0,61	1,55	1,53	0,736	4,51	4,45	58,80	61,80	3	25—26
314		"	0,98	2,65	2,47	0,779	4,88	4,55	71,80	65,40	4,5	25,5—26,5
315		"	0,84	2,54	2,36	0,764	3,62	3,86	27,47	22,20	5,75	25—26
316		"	1,23	2,21	2,11	0,761	3,44	3,29	122,20	5,25	25—26,5	
317			—	—	—	—	—	—	20,5	16,40	im Mittel	
318			—	—	—	—	—	—	8,42	8,20		

Hoden stark
vergrößert.

5. VIII.	2,5 mg Tyramin-HCl + 2,5 mg Phenyläthyl-HCl subcutan + 3 mg Tyroid Wellcome per os	0,49	1,00	0,99	0,733	3,00	2,97	111,3	3	25-26
314	6. VIII.	4 mg Tyramin-HCl + 4 mg Phenyläthyl-HCl + 4 mg Tyroid Wellcome per os	—	—	—	—	—	—	—	—
6. VIII.	7. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl subcutan + 5 mg Tyroid Wellcome per os	0,41	0,91	0,89	0,743	2,98	2,91	111,1	2,75
315	8. VIII.	2,5 mg Tyramin-HCl + 2,5 mg Phenyläthyl-HCl subcutan + 15 mg Tyroid Wellcome per os	—	—	—	—	—	—	—	—
8. VIII.	9. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 20 mg Tyroid Wellcome per os	0,41	1,06	0,95	0,810	8,57	8,20	108,1	2,75
316	10. VIII.	2,5 mg Tyramin-HCl + 2,5 mg Phenyläthyl-HCl + 15 mg Tyroid Wellcome per os	0,33	0,99	1,01	0,712	3,12	3,19	105,7	3
317	11. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 8 mg Tyroid Wellcome per os	0,55	1,59	1,47	0,786	3,10	2,88	102,4	5
318	12. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 8 mg Tyroid Wellcome per os	0,34	2,07	2,07	0,726	2,83	2,83	97,4	7,5
319	13. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 5 mg Tyroid Wellcome per os	—	—	—	—	—	—	—	—
320	14. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 10 mg Tyroid Wellcome per os	0,20	0,88	0,84	0,761	8,20	8,05	91,9	3
321	15. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 10 mg Tyroid Wellcome per os	0,35	0,94	0,82	0,830	8,36	8,98	93,4	3
322	16. VIII.	5 mg Tyramin-HCl + 5 mg Phenyläthyl-HCl + 10 mg Tyroid Wellcome per os	0,90	1,30	1,15	0,821	8,55	8,15	91,5	4
322	17. VIII.		8,10				2,98	21,6	22,6	im Mittel

***) Mittelwerte der Normalperiode.**

diese Frage in bejahendem Sinne. Es gelingt in der Tat durch vorherige Verfütterung von Schilddrüse, die sympathischen Erregungssymptome der Tyramin- und Phenyläthylaminwirkung sehr erheblich zu verstärken.

Als Beispiel sollen einige Versuchsergebnisse dienen.

1. Eine weiße Ratte (Weibchen von 162 g Körpergewicht) erhält am 9. VIII. 1921 eine Schilddrüsentablette von Burroughs Wellcome (0,324 g) per os. Am 10. VIII. werden dem Tiere zwei und am 11. VIII. eine Schilddrüsentablette gegeben. Am 12. VIII., 10^h 35' subcutane Injektion von 2,5 mg Tyramin-HCl + 2,5 mg Phenyläthylamin-HCl. Bereits 2—3 Minuten nach der Injektion treten die Erregungssymptome heftig auf. Atmung 142 in Min., auf je 25—40 Atemzüge folgt eine kurzdauernde Pause mit Atemstillstand, das Tier springt dabei leicht auf. Sonst erscheint das Tier erschöpft, bewegt sich nur mit Mühe. In abnehmender Heftigkeit dauern die Symptome noch 1 Stunde; um 12^h ist wesentliche Erholung festzustellen, Atemfrequenz 102 pro Minute.

Zur Kontrolle wurde einer anderen Ratte (Körpergewicht 155 g), die vorher keine Schilddrüse erhielt, am 12. VIII. um 10^h 40' 2,5 mg Tyramin-HCl + 2,5 mg Phenyläthylamin-HCl subcutan eingespritzt. 10^h 50' kaum ein Unterschied gegenüber dem normalen Verhalten. Um 11^h hat das mit Schilddrüse vorbehandelte Tier noch sehr schwere Symptome. Das Kontrolltier ist normal bewegt sich frei im Käfig.

2. Männliche weiße Ratte (130 g) erhält am 12. VIII. 1921 eine Schilddrüsentablette (Burroughs Wellcome à 0,324 g), am 13. VIII. zwei Tabletten, am 14. und 15. VIII. je eine Tablette per os. Am 16. VIII., 9^h 45' subcutane Injektion von 3 mg Tyramin-HCl + 3 mg Phenyläthylamin-HCl. Gleichzeitig erhält eine normale Ratte (126 g) ebenfalls 3 mg Tyramin-HCl + 3 mg Phenyläthylamin-HCl subcutan. Der Unterschied im Verhältnis beider Tiere nach der Injektion ist noch stärker ausgesprochen als im Versuch vom 12. VIII. 9^h 55'. Das mit Schilddrüse vorbehandelte Tier hat eine oberflächliche, fliegende Atmung. Der Kopf ist nach oben gerichtet, das Tier liegt, bewegt sich nicht auf Antrieb. Die Kontrollratte ist lebhaft, springt herum; die Atmung ist etwas beschleunigt, aber nicht in solchem Maße wie beim Schilddrüsentier. 11^h 05'. Stark beschleunigte, zeitweise aussetzende Atmung beim mit Thyreoidea vorbehandelten Tier, normale Atmung beim Kontrolltier. Der Unterschied im Verhalten beider ist noch um 12^h deutlich; am Nachmittag Erholung, beide Tiere erscheinen normal.

Die gegenseitige Verstärkung von Tyramin-Phenyläthylamin und Schilddrüse geht aus den angeführten Versuchen klar hervor. — Ob die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse auch durch Adrenalin verstärkt werden kann, habe ich nicht untersucht. Es erscheint mir dieses aber wahrscheinlich, da es bekannt ist, daß das System Adrenalin-Schilddrüse eine Verstärkung der Blutdruckwirkung zeigt¹⁾. Auch die Gefäßwirkung des Adrenalins wird durch Schilddrüse verstärkt. Nach A. Oswald²⁾ ergibt auch das Jodthyreoglobulin eine Verstärkung des hämodynamischen Adrenalineffektes. Nach A. Oswald soll dem Jodthyreoglobulin die Eigenschaft zukommen, den Tonus des animalen und vegetativen Nervensystems in ausgesprochener Weise zu erhöhen. In diesem Zusammenhange wird von Oswald kurz die Frage erwähnt, ob nicht die Stoffwechselwirkung des Schilddrüsensekretes ihren Weg über das Nervensystem nimmt. In einer weiteren Untersuchung fand Oswald³⁾, daß dagegen künstlich jodierte Eiweißkörper, sowie das Nucleoprotein der Schilddrüse den hämodynamischen Adrenalineffekt nicht verstärken.

¹⁾ Vgl. darüber F. Kraus und H. Friedenthal, Asher und Flack, Zeitschr. f. Biol. 55.

²⁾ A. Oswald, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 164, 506.

³⁾ A. Oswald, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 166, 169.

3. Versuche mit Cholinbromid.

Verschiedene Gründe veranlaßten die Untersuchung des Cholins. Diese Substanz gehört ebenfalls zur Gruppe der proteinogenen Amine und enthält ebenso wie Phenyläthylamin, Tyramin, Adrenalin, Histamin usw. die charakteristische Atomgruppierung $-C-C-N$. Cholin ist sowohl im Pflanzen- als auch im Tierreich außerordentlich verbreitet. Es gibt beinahe kein tierisches Organ, in dem nicht Cholin nachgewiesen werden konnte. In neuester Zeit wird das „Cholin als Hormon der Darmbewegung“¹⁾ angesehen und es ist Le Heux²⁾ gelungen, Cholin aus der Darmwand zu isolieren. Die physiologische Bedeutung des Cholins wird immer höher eingeschätzt. Zudem ist Cholin ein parasympathisch erregendes Mittel, dessen vielseitige Wirkungen eingehend untersucht wurden³⁾. Gaswechselversuche mit Cholin sind m. W. bisher nicht ausgeführt worden. Die unten angeführten Versuche zeigen, daß es gelingt, durch länger dauernde Zufuhr von Cholinbromid den Gaswechsel zu erhöhen. Verwendet wurde Cholinbromid „Ciba“. Das wasserfreie Präparat enthält 56,5% Cholin.

Die Wirkung ist schwächer als diejenige von Tyramin und Phenyläthylamin. Sie tritt nicht sofort auf und hält auch nicht lange an. Unterbricht man die Cholininjektionen, so kehrt der Gaswechsel nach einigen Tagen zur ursprünglichen Höhe zurück. Injiziert man wieder das Cholin, so steigt nach einigen Tagen der respiratorische Stoffwechsel wieder an (vgl. Tab. X, Versuche 336—342).

Bei einer anderen Ratte hat das Cholin stärker gewirkt (vgl. Tab. XI). Hier konnte im einzelnen Versuch der Sauerstoffverbrauch um 25% und die Kohlen säureausscheidung um 32,7% gesteigert werden. Der Mittelwert der Cholinperiode ergibt im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode eine Zunahme der CO_2 -Ausscheidung um 19% und des Sauerstoffverbrauches um 14,3%. Die stärkere Cholinwirkung bei dieser Ratte ist wohl auf individuelle Verschiedenheiten zurückzuführen.

Über die Wirkung des Cholins auf den Kohlenhydratstoffwechsel findet sich eine Angabe von Frank und Isaak⁴⁾, daß die durch Adrenalin bewirkte Hyperglykämie und Glycosurie durch Cholin nicht beeinflußt wird. Nach A. Bornstein und Vogel⁵⁾ ergibt auch Cholin eine Erhöhung des Blutzuckers. Ebenso wirkt Acetylcholin.

4. Versuche mit Acetylcholin.

Von den Abkömmlingen des Cholins verdient das Acetylcholin ein hohes Interesse. Ewins hat aus dem Mutterkorn das Acetylcholin isoliert und somit den Beweis erbracht, daß in der Natur neben dem Lecithin auch andere Cholinester vorkommen. An überlebenden Organen erweist sich das Acetylcholin als äußerst wirksam. Zu meinen Versuchen diente ein sehr schön krystallisierendes Präparat der Gesellschaft für

¹⁾ R. Magnus, Die Naturwissenschaften. 1920, S. 383.

²⁾ Le Heux, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 179. 1920.

³⁾ Vgl. M. Guggenheim, Die biogenen Amine. Berlin 1920.

⁴⁾ Frank und Isaac, Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. 7, 126.

⁵⁾ A. Bornstein und R. Vogel, diese Zeitschr. 118, 1. 1921.

Tabelle X. Wirkung des Cholins auf den Gaswechsel der Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparate	H ₂ O-Bil- dung	CO ₂ - Bil- dung	O ₂ - Auf- nahme	R.-Q.	CO ₂	O ₂	pro Kilo im Mittel während der einzelnen Perioden	CO ₂	O ₂	%-Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode	Gewicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens
			g	g	g		g	g		g	g	%	g	Std.	in °
323	11. I.	nücht.	0.39	1.12	1.12	0.726	2.32	2.32					148.50	3.25	20
324	12. I.	"	0.75	1.53	1.50	0.741	2.47	2.42					142.90	4.33	20-21
325	13. I.	"	0.71	1.68	1.59	0.767	2.36	2.24					142	5	20
326	14. I.	"	0.42	1.05	1.04	0.733	2.51	2.49					139.40	3	20
327	15. I.	"	0.95	1.90	1.83	0.754	2.51	2.41					137.6	5.5	20
328	18. I.	"	0.50	1.02	1.02	0.726	2.44	2.44					136.3	3	21
329	19. I.	"	0.45	2.02	1.95	0.752	2.44	2.38	2.43	2.39			134.2	6.1	21-22
330	19. I.	30 mg Cholinbromid subc.	—	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—	—
331	20. I.	"	0.47	0.95	0.85	0.812	2.37	2.12					133.8	3	21
332	21. I.	"	0.81	1.56	1.48	0.766	2.62	2.49					132.1	4.5	20-21
333	22. I.	"	—	—	—	—	—	—					—	—	—
334	23. I.	"	—	—	—	—	—	—					—	—	—
335	25. I.	"	0.53	1.34	1.24	0.785	2.47	2.28					144.7	3.75	21
336	26. I.	"	0.49	1.38	1.32	0.760	2.45	2.34					141	4	21
337	27. I.	"	0.27	0.80	0.77	0.750	2.84	2.67				16.5	140.3	2	20
338	28. I.	"	0.56	1.60	1.49	0.780	2.82	2.62				16.2	142	4	20-21
339	28. I.	"	0.67	1.83	1.79	0.743	2.66	2.60				11.60	137.80	5	20
340	29. I.	"	1.28	2.16	2.10	0.747	2.65	2.58				11.60	148.20	5.5	20-21
341	1. II.	"	0.68	1.47	1.45	0.736	2.43	2.40				8.4	142.20	4.25	21-22
342	1. II.	"	0.55	1.57	1.51	0.755	2.55	2.46					136.5	4.5	21-22
343	2. II.	"	0.75	1.16	1.16	0.726	2.65	2.65				11.60	134.6	3.25	21-21.5
344	3. II.	"	0.45	1.51	1.43	0.767	2.78	2.63				14.40	135.80	4	21-22
345	4. II.	"	0.51	1.92	1.87	0.746	2.73	2.68				12.3	140.6	5	20-21
346	5. II.	"	0.56	1.25	1.23	0.739	2.65	2.60				9	135.0	3.5	20-21
347	8. II.	"	0.41	1.84	1.74	0.768	2.43	2.29				11.60	133.8	5.6	21
348	9. II.	"	0.48	1.95	1.83	0.774	2.66	2.49	2.61	2.43		11.60	133.3	5.6	20-21
349	11. II.	"	—	—	—	—	—	—	—	—			—	—	—

Tabelle XI. Wirkung des Cholins auf den Gaswechsel.

Weisse Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O-Bil-		CO ₂ -Bil-		O ₂ -Auf-		R.-Q.	CO ₂	O ₂	CO ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% Steigerung im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens
			g	g	g	g	g	g										
1920																		
346	14. I.	nüchtl.	kein	0,44	2,25	2,23	0,733	2,55	2,52	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	130,9	6,75	17
347	20. I.	"	"	0,50	2,50	2,41	0,754	2,87	2,77	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	184	6,5	17
348	21. I.	"	"	0,46	2,06	2,03	0,737	2,95	2,91	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	126,7	5,5	16-17
349	23. I.	"	"	0,57	2,78	2,73	0,740	2,78	2,73	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	124,7	8	15-17
350	29. I.	"	"	0,48	1,04	1,02	0,741	2,89	2,83	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	119,9	3	17
351	4. II.	"	"	1,15	2,73	2,56	0,775	3,05	2,88	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	111,4	8	16
352	9. II.	"	"	0,35	1,60	1,68	0,700	2,75	2,89	2,85	2,80	2,85	2,80	32,7	25,40	116,3	5	16
353	10. II.	1,2 mg Cholinbromid subc.	"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
354	11. II.	6,2 mg "	"	0,42	1,85	1,74	0,772	3,11	2,92	3,11	2,92	3,11	2,92	32,7	25,40	125,4	4,75	16-17
355	12. II.	25 mg "	"	0,45	2,56	2,57	0,734	3,45	3,46	3,45	3,46	3,45	3,46	32,7	25,40	118,6	6,25	15
356	13. II.	36 mg "	"	0,39	2,00	1,91	0,760	3,39	3,24	3,39	3,24	3,39	3,24	32,7	25,40	117,9	5	15-16
357	14. II.	50 mg "	"	0,51	2,86	2,70	0,769	2,90	2,73	2,90	2,73	2,90	2,73	32,7	25,40	119,6	8,25	15 16
358	15. II.	75 mg "	"	0,25	1,68	1,58	0,772	3,26	3,06	3,26	3,06	3,26	3,06	32,7	25,40	114,6	4,5	15
359	16. II.	100 mg "	"	0,58	2,59	2,40	0,784	3,78	3,51	3,78	3,51	3,78	3,51	32,7	25,40	109,5	6,25	16
360	17. II.	70 mg "	"	0,43	2,96	2,71	0,793	3,49	3,20	3,49	3,20	3,49	3,20	32,7	25,40	113,0	7,5	15-16
361	1. III.	"	"	0,66	3,05	2,88	0,769	3,71	3,51	3,71	3,51	3,71	3,51	32,7	25,40	126,4	6,5	15-16

Proteinogene Amine. V.

33

Tabelle XII. Wirkung des Acetylcholins auf den Gaswechsel der Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme		R.-Q.		CO ₂		O ₂		pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Kastens	
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	Std.	in °				
1921																				
362	5. XI.	nüchtl.															184,6	5	21—22	
363	6. XI.	kein	0,68	2,42	2,36	0,745	2,62	2,56									182,8	8,75	19	
364	7. XI.	„	0,34	1,76	1,74	0,785	2,57	2,54									176,1	4,5	20	
365	9. XI.	„	0,34	2,11	2,04	0,761	2,66	2,68									176,2	5,75	20—21	
366	10. XI.	„	0,62	2,85	2,78	0,744	2,81	2,74									178,2	4	22	
367	11. XI.	„	0,50	1,79	1,79	0,726	2,58	2,58									172,2	4,5	20	
368	12. XI.	„	0,46	1,98	1,86	0,778	2,55	2,40									176,9	4	20	
369	13. XI.	„	0,46	1,79	1,68	0,774	2,53	2,37									187,8	4	21	
370	14. XI.	„	0,41	2,00	1,85	0,775	2,66	2,45			2,62	2,53					181,9	5,25	21	
371	17. XI.	1/2 Std. vor dem Versuch, 20 mg Acetylcholin sube.	0,44	2,56	2,38	0,748	2,68	2,44									182,9	5	21—21,5	
372	18. XI.	2 Std. nach Injekt. (sube.) von 10 mg Acetylcholin	0,52	2,23	2,19	0,740	2,41	2,39												
373	19. XI.	15 mg Acetylcholin sube.	—	—	—	—	—	—												
374	20. XI.	20 mg Acetylcholin sube.	—	—	—	—	—	—												
375	21. XI.	1/2 Std. vor d. Versuch, 20 mg Acetylcholin sube.	0,44	2,48	2,25	0,800	2,57	2,34									192,6	5	20—21	
376	22. XI.	50 mg Acetylcholin per os	0,37	2,24	2,24	0,726	2,40	2,40									186,8	5	20	
377	23. XI.	„	—	—	—	—	—	—												
378	24. XI.	4 Std. nach sube. Inj. von 30 mg Acetylcholin	0,39	2,28	2,07	0,739	2,34	2,12									195,0	5	21—22	
379	25. XI.	1/2 Std. nach sube. Inj. von 30 mg Acetylcholin	0,40	1,62	1,62	0,726	2,47	2,47									184,5	3,5	20—21	
380	26. XI.	1/2 Std. nach sube. Inj. von 30 mg Acetylcholin	0,55	2,30	2,16	0,774	2,44	2,29									179,8	5,25	20—21,5	
381	6. XII.	kein	0,51	3,16	3,06	0,745	2,63	2,59			2,48	2,35					177,0	6,75	21	

Tabelle XIIa.

378	27. VII.	nüchtl.	kein	0,79	1,56	1,52	0,745	2,21	2,25	104,00	6,5	25—26
379	28. VII.	„	„	0,68	0,98	0,94	0,757	2,22	2,18	110,0	4	25—26
380	30. VII.	„	„	0,61	1,42	1,35	0,764	2,38	2,26	108,4	5,5	25
									2,30	2,21		
381	1. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 5 mg Acetylcholin subc.	„	0,25	0,82	0,75	0,794	2,14	1,96	109,80	3,5	25
382	2. VIII.	2/3 Std. vor d. Vers. 16 mg Acetylcholin subc.	„	0,70	0,90	0,86	0,760	1,92	1,84	108,9	4,5	25—26
383	4. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 30 mg Acetylcholin subc.	„	0,42	1,37	1,34	0,748	—	2,81	106,45	5,5	24
384	5. VIII.	40 mg Acetylcholin subc.	„	—	—	—	—	2,96	—	—	—	—
384	6. VIII.	„	„	0,30	0,92	0,87	0,708	2,13	2,01	108,1	4	25
385	6. VIII.	70 mg Acetylcholin per os.	„	—	—	—	—	—	—	—	—	—
385	8. VIII.	„	„	0,68	1,51	1,32	0,831	2,06	1,79	106,5	7	25—26
									2,12	1,96		

Chemische Industrie in Basel. Injektion sowie perorale Eingabe von Acetylcholin führte bei der Ratte zu einer Abnahme der Kohlensäureausscheidung und des Sauerstoffverbrauches. Ein abschließendes Urteil über die Bedeutung des Acetylcholins für den Stoffwechsel ist aber durch diese Versuche nicht gegeben. Wie bei all den Substanzen dieser Gruppe wird wohl auch beim Acetylcholin die Wirkung sehr wesentlich von der Dosierung abhängen und es ist sehr wahrscheinlich, daß bei ausgedehnteren Versuchen auch andere Stoffwechselwirkungen des Acetylcholins sich auffinden lassen würden. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabellen XII und XIIa zusammengefaßt.

5. Versuche mit Histamin.

Unter den proteinogenen Aminen gehört das Histamin zu den wirksamsten Substanzen. Die eingehendsten Untersuchungen über Histamin verdanken wir Dale und Laidlaw. Es ist nicht nötig, die verschiedenartigsten Wirkungen des Histamins hier aufzuzählen. Es genügt der Hinweis, daß es in erster Linie die glatte Muskulatur angreift, dabei aber nach Dale und Laidlaw eine geringe autonome Reizung ausübt¹⁾. Die Histaminwirkung ist überhaupt ganz anderer Natur als diejenige von Tyramin, Phenyläthylamin, Adrenalin, Cholin usw. Die Stoffwechselversuche wurden mit Histaminphosphat von Burroughs Wellcome („Ergamine“) ausgeführt.

Auf den Gaswechsel der Ratten hatte in vorliegenden Versuchen das Histamin keine oder nur eine sehr geringe Einwirkung. Bei der bekannten Giftigkeit des β -Imidazolyläthylamins habe ich zuerst mit nur ganz kleinen Dosen angefangen. Aber auch diesem Gift gegenüber erwiesen sich die Ratten sehr widerstandsfähig. Allmählich konnte zu ganz großen Dosen übergegangen werden, ohne daß sich der Stoffwechsel dadurch wesentlich beeinflussen ließ. In den Versuchen 386—396 trat unter dem Histamineinfluß gar keine Änderung im Gaswechsel ein (vgl. Tab. XIII). Ebenso erfolglos blieb die Histamineingabe in den Versuchen 397—423. Nur bei Anwendung höherer Dosen trat eine geringe und ganz flüchtige Erhöhung des Gaswechsels ein (Tab. XIV). Auf Grund dieser Erfahrungen wird man wohl das Histamin nicht zu denjenigen Stoffen rechnen, welche bei der Regulierung unserer Stoffwechselvorgänge eine große Rolle spielen. Seine physiologische Bedeutung dürfte auf anderem Gebiete liegen.

6. Versuche mit Pilocarpin.

Die Grundwirkung des Pilocarpins besteht in einer Erregung der parasympathischen Endorgane. Die plötzlich einsetzende Förderung des Parasympathicus ergibt ein komplexes Bild, welches hier nicht beschrieben werden soll. O. Frank und Fr. Voit²⁾ fanden bei der Untersuchung der Sekretionsarbeit der Drüsen eine vermehrte Kohlensäureausscheidung nach Pilocarpininjektion. Diese Versuche wurden an einem curarisierten und tracheotomierten Hunde ausgeführt. Eingehender wurde die gleiche Frage von G. Kelemen³⁾ studiert. Auch Kelemen

¹⁾ Vgl. M. Guggenheim, Die biogenen Amine. 1920, S. 191.

²⁾ O. Frank und Fr. Voit, Zeitschr. f. Biol. 44, 111. 1903.

³⁾ G. Kelemen, diese Zeitschr. 89, S. 135.

Tabelle XIII. Wirkung des Histamins auf den Gaswechsel der Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung g	CO ₂ - Bil- dung g	O ₂ - Auf- nahme g	R.-Q.	CO ₂	O ₂	pro Kilo und Stunde	CO ₂	O ₂	pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	Ge- wicht der Ratte g	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Ver- suchs Kastens
															in °
386	27. IX.	nücht.													
387	4. X.	kein	0,58	1,13	1,12	0,733	3,40	3,37					95,0	3,5	18
388	5. X.		0,32	1,66	1,66	0,726	3,21	3,21					108,90	4,75	18
389	6. X.		0,20	1,06	1,04	0,740	3,40	3,33					103,90	3	18
390	10. X.		0,19	0,99	1,00	0,719	3,30	3,34					99,8	3	18
391	13. X.		0,18	0,77	0,68	0,822	3,51	3,10					104,3	2,1	18
			0,59	2,06	1,87	0,800	3,54	3,21					116,4	5	18—19
									3,89			3,26			
392	15. X.	subc. Injektion von 7 mg Histamin	0,25	1,10	1,06	0,747	3,21	3,12					113,0	3	18
393	18. X.	subc. Injektion von 10 mg Histamin	0,34	1,12	1,09	0,746	3,41	3,32					109,3	3	17
394	19. X.	subc. Injektion von 7 mg Histamin	0,50	1,55	1,44	0,764	3,18	2,96					108,2	4,5	18
395	20. X.	subc. Injektion von 15 mg Histamin	1,09	2,12	2,12	0,726	3,13	3,13					102,7	6,75	18—19,5
396	25. X.	subc. Injektion von 20 mg Histamin	0,70	1,22	1,19	0,745	3,43	3,34					101,6	3,5	19
	26. X.								3,27			3,17			

Tabelle XIV.
Wirkung des Histamins auf den Gaswechsel der Ratte.
Weibchen.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung	CO ₂ - Bil- dung	O ₂ - Auf- nahme	R-Q.	CO ₂ , pro Kilo und Stunde	O ₂ , pro Kilo und Stunde	CO ₂ , pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	O ₂	Gewicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens
			g	g	g		g	g			g	Std.	in
397	15. I.	nücht.	0,73	2,81	2,69	0,757	2,76	2,64			185,2	5,5	16
398	20. I.	kein	0,37	2,79	2,77	0,732	2,73	2,71			170,0	6	16
399	26. I.	"	0,46	2,51	2,42	0,754	2,67	2,57			163,7	5,75	16
400	28. I.	"	0,36	2,22	2,18	0,740	2,67	2,62			166,6	5	16-17
401	5. II.	"	0,47	2,11	2,11	0,726	2,67	2,67			157,8	5	17
402	6. II.	"	0,35	1,28	1,09	0,855	2,56	2,20			166,7	3	16
403	9. II.	"	0,53	3,40	3,43	0,720	2,75	2,78	2,71	2,60	161,9	8	16
404	10. II.	7,5 mg Histamin-HCl subcutan	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
405	11. II.	10 mg Histamin-HCl subcutan	0,26	2,03	1,95	0,756	2,50	2,40	—	—	162,5	5	16-17
406	12. II.	3 Stunden nach subcutan. Injektion von 10 mg Histamin-HCl	0,50	3,20	3,10	0,750	2,45	2,37	—	—	163,4	8	16-17
407	17. II.	"	0,40	2,28	2,28	0,726	2,54	2,54			156,2	5,75	16-17
408	20. II.	"	0,38	2,13	2,06	0,755	2,70	2,59			158	5	15-16
409	24. II.	"	0,40	2,09	2,03	0,747	2,63	2,56			151,1	5,25	15-16
410	25. II.	"	0,24	1,59	1,53	0,755	2,56	2,46			146,3	4,25	16
411	26. II.	"	0,25	2,05	1,78	0,837	2,73	2,37			157,8	4,75	16
			0,32	2,87	2,61	0,799	2,65	2,41	2,60	2,46	154,5	7	15-16

Tabelle XV. Wirkung des Histamins auf den Gaswechsel der Ratte (Männchen).

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bl- dung	CO ₂ - Bl- dung		O ₂ - Auf- nahme	R.-Q.	CO ₂ O ₂		CO ₂ - Aus- scheid.	O ₂ - Ver- brauch	Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Raumes
				g	g	g		pro Kilo und Stunde	g	pro Kilo und Stunde während der einzelnen Perioden	g	g	Std.	in °
412	28. IX.	nüchtl.		0,62	2,63	2,43	0,786	3,77	3,49			87,10	8	18—19
413	1. X.	kein		0,52	1,92	1,89	0,738	3,70	3,64			89,0	6 ¹ / ₄	18
414	4. X.	"		0,31	0,98	0,94	0,757	3,85	3,69			92,60	2 ³ / ₄	19
415	5. X.	"		0,36	1,77	1,66	0,774	3,72	3,49			95,20	5	17—18
416	8. X.	"		0,72	1,80	1,65	0,792	3,77	3,46			90,9	5 ¹ / ₄	18
	9. X.	Injektion von 15 mg Histaminphosphat = 5 mg Histamin subc.		—	—	—	—	—	—	3,76	3,55	—	—	—
417	11. X.	1 Std. nach Injektion von 9 mg Histamin		0,51	1,94	1,91	0,738	3,75	3,70			103,3	5	18—18,5
418	12. X.	1 ¹ / ₂ Std. nach Injektion von 10 mg Histamin		0,44	1,48	1,44	0,746	3,79	3,69			97,5	4	18,5
419	13. X.	Injektion von 10 mg Histamin		—	—	—	—	—	—			—	—	—
419	14. X.	"		0,44	1,71	1,61	0,771	3,69	3,47			100,7	4,6	18
420	14. X.	Nach d. Versuch Injekt. von 10 mg Histamin		—	—	—	—	—	—			—	—	—
420	16. X.	"		0,53	1,49	1,42	0,762	3,74	3,57			99,5	4	18
421	18. X.	Injektion von 10 mg Histamin		—	—	—	—	—	—			—	—	—
421	19. X.	"		0,57	1,69	1,54	0,797	3,76	3,42			99,9	4 ¹ / ₂	18
422	21. X.	"		1,38	2,56	2,61	0,712	3,52	3,58			103,90	7	18,5
423	25. X.	"		1,03	1,93	1,93	0,726	3,58	3,58	3,69	3,57	104,5	5,16	19

Tabelle XVI. Wirkung des Histamins auf den Gaswechsel der Ratte.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparate	H ₂ O- Bil- dung g	CO ₂ - Bil- dung g	O ₂ - Auf- nahme g	R.-Q.	CO ₂		pro Kilo im Mittel während der einzelnen Perioden		Gewicht des Ver- suchs g	Dauer des Ver- suchs Std.	Tempe- ratur des Kastens in °
							CO ₂	O ₂	CO ₂	O ₂			
424	5. XI.	nucht.	0,33	2,05	2,02	0,737	2,40	2,36			167,7	5,1	19,5—20,5
425	6. XI.	"	0,42	1,92	1,92	0,726	2,63	2,63			153,8	4,75	19—20
426	7. XI.	"	0,37	1,87	1,85	0,734	2,65	2,62			148,4	4,75	20—21
427	8. XI.	"	0,56	1,84	1,74	0,768	2,43	2,30			151,1	5	21—22
428	10. XI.	"	0,43	1,47	1,35	0,791	2,60	2,39			125,7	4,5	21
429	12. XI.	"	0,30	1,27	1,25	0,738	2,39	2,35			132,7	4	20
430	15. XI.	"	0,61	1,94	1,74	0,809	2,56	2,30	2,52	2,42	138,0	5,5	21
431	17. XI.	"	0,54	1,99	1,88	0,769	2,58	2,44			140,1	5,5	21
432	18. XI.	"	0,34	1,73	1,66	0,757	2,57	2,47			134,5	5	21,5
433	19. XI.	"	—	—	—	—	—	—			—	—	—
434	20. XI.	"	—	—	—	—	—	—			—	—	—
435	21. XI.	"	0,70	2,27	2,03	0,812	3,08	2,75			147,4	5	20
436	22. XI.	"	0,67	2,09	2,03	0,748	2,91	2,84			142,8	5	20—21
437	23. XI.	"	—	—	—	—	—	—			—	—	—
438	24. XI.	"	0,48	1,86	1,76	0,768	2,63	2,49			141,3	5	20—21
439	25. XI.	"	0,81	1,90	1,79	0,771	2,74	2,58	2,75	2,59	138,6	5	21—22

führte die Gaswechselversuche an curarisierten Hunden aus. Bei einigen Tieren trat nach Pilocarpininjektion eine Erhöhung des Gaswechsels um ca. 10% ein. Gleichzeitig fand eine Anreicherung des venösen und arteriellen Blutes an CO_2 statt. Wie Kelemen selbst zugibt, ist aber ein großer Teil seiner Versuche nicht verwertbar, da einige Tiere nach der Pilocarpininjektion alsbald verendeten. Von den verwendeten zehn Hunden konnten nur Versuche an vier Tieren benutzt werden. Bei drei dieser Tiere war kurz nach der Pilocarpininjektion auch eine Senkung des Gaswechsels festzustellen.

Wenn wir uns an die eigenen Versuche an Ratten wenden, so erkennen wir im Pilocarpin ein Mittel, welches den Gaswechsel sehr intensiv beeinflusst. Eine Nachwirkung auf den Gaswechsel, wie sie für Thyreoida, Tyramin-Phenyläthylamin, zum Teil auch für Adrenalin gerade typisch ist, finden wir beim Pilocarpin nicht. Dagegen ist aber die temporäre Wirkung eine außerordentlich mächtige. Im Versuch 443 (vgl. Tab. XII) hatte die subcutane Injektion von $\frac{1}{2}$ mg Pilocarpin hydr. in den ersten Stunden mehr als eine Verdoppelung der CO_2 -Ausscheidung und eine 2,8fache Erhöhung des Sauerstoffverbrauches zur Folge. Diese ungleichmäßige Steigerung der CO_2 -Produktion und der Sauerstoffaufnahme muß von einer Änderung des Respirationsquotienten begleitet sein. Als ein ziemlich konstantes Symptom der Pilocarpinwirkung tritt eine Erniedrigung des Respirationsquotienten auf. Sowohl bei dieser, als auch bei den zwei anderen Ratten sehen wir diese Herabsetzung des Respirationsquotienten nur einmal, und zwar nach der ersten Pilocarpininjektion. Auch der Gaswechsel wird am stärksten nach der ersten Injektion beeinflusst. Bei den nachfolgenden Einspritzungen ergeben gleich große Pilocarpinmengen kleinere Effekte (vgl. Versuche 443 und 448). Um deutliche Ausschläge zu erhalten, ist man daher gezwungen, im Laufe des Versuches höhere Dosen anzuwenden. Wir finden dieses Verhalten nicht nur beim Pilocarpin, sondern auch bei vielen der hier geprüften Substanzen wieder. Auch die Wasserausscheidung durch die Lunge (und Haut) wird durch die erste Pilocarpininjektion weit stärker beeinflusst, als durch die nachfolgenden (vgl. Versuche 443 und nachfolgende).

Tab. XVIIa enthält Angaben über die Wirkung der Pilocarpinzufuhr per os. Auch bei dieser Applikationsweise wird der Gaswechsel im gleichen Sinne beeinflusst, allerdings in nicht so hohem Maße.

Ein Pilocarpinversuch vom 27. VII. bis 12. VIII. 1921 ist in Tab. XVIII zusammengefaßt. An diesem Tier sollte die Wirkung größerer Pilocarpinmengen studiert werden. Die Versuche sprechen in dem Sinne, daß einer größeren Dose von Pilocarpin keinesfalls auch eine größere Wirkung zukommt. Im Versuch 469, wo probeweise 4 mg Pilocarpin hydr. eingespritzt wurden, trat im Gegenteil eine deutliche Abnahme des Gaswechsels ein. Auch die erste Pilocarpininjektion hat schwächer als in den früheren Fällen gewirkt. Es ist dies wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß hier mit einer zu hohen Dose Pilocarpin gearbeitet wurde. Der Gaswechsel wurde zwar erhöht, aber nicht so bedeutend. Dagegen haben bei dieser Ratte kleinere Mengen ganz typisch gewirkt, relativ viel stärker als größere Dosen. Diese Versuche zeigen, daß die Ratte für Stoffwechseluntersuchungen dieser Art sehr geeignet ist und die Anwendung verschieden hoher Dosen ermöglicht. Die Resistenz der Ratten kommt deutlich zum Ausdruck, wenn man die hier angeführten Versuche mit denjenigen von A. Kelemen am Hunde vergleicht, in welchen Pilocarpinmengen von 1 mg pro Kilo Körpergewicht die Tiere rasch töteten. Ein Pilocarpinversuch an einer jungen wachsenden Ratte ist in Tab. XIX zusammengestellt. Auch hier bewirkte die erste Pilocarpininjektion eine Erniedrigung des Respirationsquotienten (vgl. Versuch 479).

Tabelle XVII. Wirkung des Pilocarpins auf den Gaswechsel der Ratte.
(Männchen.)

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O, CO ₂ - Bil- dung			O ₂ -Aufnahme			CO ₂ , O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ , O ₂ pro Kilo im Mittel während d. einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Dauer des Versuchs		Tempe- ratur des Kas- tens	Be- merkungen	
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%	g	Std.	in			
1921																			
437	1. III.	nücht.																	
438	2. III.	kein	0,29	1,28	1,16	0,900	2,98	2,62								142,80	8,1	20	
439	3. III.	"	0,20	1,07	1,08	0,755	2,52	2,42								141,50	8	20-20,5	
440	4. III.	"	0,55	2,74	2,68	0,757	2,90	2,78								148,0	6,6	19-20	
441	5. III.	"	0,23	1,30	1,20	0,785	2,66	2,45								189,9	3,5	20-20,5	
		"	0,16	1,15	1,06	0,778	2,73	2,57								140,1	8	20-21	
									2,74	2,57									
442	7. III.	1 Std. v. Versuchsbeginn	0,48	1,69	1,64	0,750	2,95	2,86								184,8	4,25	19	
443	8. III.	1 Std. v. Versuchsbeginn	0,76	3,21	3,08	0,633	6,18	7,09								120,7	4	18-19	
444	9. III.	"	0,21	1,18	1,01	0,735	2,85	2,60								135,6	8	19,5-20	
445	10. III.	2 Std. v. d. Versuch	0,48	1,77	1,76	0,731	3,48	3,46								127,20	4	18	
446	11. III.	"	0,14	1,21	0,99	0,859	3,02	2,41								186,80	3	19-20	
447	12. III.	18 Std. nach subc. Inj. v. 0,5 mg Pilocarpin hydr.	0,12	1,00	0,97	0,749	2,48	2,41								184,20	8	20	
448	14. III.	2 Std. v. d. Versuch	0,51	1,93	1,90	0,738	3,00	2,95								182,0	4,5	19	
449	15. III.	"	0,31	2,43	2,31	0,764	2,82	2,68								182,70	6,5	20-20,5	
450	16. III.	"	0,47	2,01	1,99	0,784	2,90	2,86								128,20	6,25	20	
451	17. III.	"	0,16	1,21	1,16	0,758	2,69	2,58								128,70	3,5	19-20	
452	18. III.	2 Std. v. d. Versuch	0,26	1,23	1,19	0,751	3,33	3,28								123,0	8	19	
453	19. III.	"	0,12	0,94	0,90	0,759	2,47	2,37								126,80	8	19	
454	21. III.	2 Std. v. d. Versuch	0,35	1,49	1,49	0,726	3,89	3,89								117,70	3,25	18	
									3,25	3,19									
														</					

Tabelle XVIIa.

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O, CO ₂ - Bil- dung			O ₂ -Aufnahme			CO ₂ , O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ , O ₂ pro Kilo im Mittel während d. einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Dauer des Versuchs		Tempe- ratur des Kas- tens	Be- merkungen
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%	Std.	in		
1921																		
455	18. V.	kein	0,58	2,18	1,96	0,799	3,89	3,50							112,0	5	20-21	
456	19. V.	"	0,66	2,42	2,30	0,764	3,86	3,67							119,5	6,25	21-22	
457	23. V.	1 1/2 Std. v. d. Vers. 2 mg Pilocarpinhydr. per os	1,11	3,21	3,48	0,680	4,03	4,30							113,80	7	22-23	
1922																		
458	26. V.	1/4 Std. v. d. Vers. 1,5 mg Pilocarpin hydr. per os	0,38	1,98	1,88	0,765	4,08	3,88							122,80	4	22-24	dgl.
459	30. V.	1/4 Std. v. d. Vers. 3 mg Pilocarpin hydr. per os	0,74	2,52	2,32	0,780	4,30	3,95							117,50	5	22	dgl.
460	1. VI.	"	0,50	1,82	1,78	0,741	3,98	3,89							119,6	4,5	22-23	

Nach Ab-
schluß des
Versuches
frist d. Tier

Tabelle XVIII. Wirkung des Pilocarpins auf den Gaswechsel der Ratte.
(Weibchen.)

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O-Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme		R.-Q.		CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tempe- ratur des Kastens	Bemerkungen
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%	g	Std.	in °	
461	27. VII.	nücht.	1,42	2,00	1,88	0,773	2,58	2,42							112,3	7	26	
462	28. VII.	"	0,48	0,81	0,81	0,726	2,36	2,36							114,2	3	26—27	
463	29. VII.	"	0,82	1,22	1,20	0,738	2,28	2,24							112,8	4,75	26	
464	1. VIII.	"	0,27	0,93	0,91	0,742	2,56	2,50							121,20	3	25	
465	2. VIII.	"	0,45	1,19	1,17	0,739	2,42	2,38			2,44	2,38			115,7	4,25	26—27	
466	3. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 1,5 mg Pilocarpin																
		hydr. subc. . .	0,88	1,44	1,38	0,758	2,71	2,60							118,0	4,5	26	
467	4. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 1 mg Pilocarpin																
		hydr. per os . .	0,43	1,68	1,61	0,758	2,72	2,61							112,30	5,5	24—24,5	
468	5. VIII.	1 mg Pilocarpin																
		hydr. subc. . .	0,32	1,05	0,99	0,770	2,61	2,46							115,0	3,5	25—26	
469	6. VIII.	1 Std. vor d. Vers.																
		4 mg Pilocarpin	0,35	1,24	1,12	0,804	2,39	2,16							115,30	4,5	26—27	Im Harn kein Zucker
470	10. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 0,5 mg Pilocarpin																
		hydr. subc. . .	0,44	1,21	1,09	0,806	3,00	2,70					23	13,5	115,10	3,5	27—28	Im Harn kein Zucker
471	11. VIII.	"	0,53	1,61	1,55	0,754	2,57	2,42							113,80	5,5	25	
472	12. VIII.	1/2 Std. vor d. Vers. 0,4 mg Pilocarpin																
		hydr. subc. . .	0,38	1,65	1,58	0,758	2,93	2,80			2,72	2,54	20	18	112,80	5	25	

Tabelle XIX. Wirkung des Pilocarpins auf den Gaswechsel einer jungen, wachsenden Ratte.
(Männchen.)

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O Bil- dung		CO ₂ Bil- dung		O ₂ Auf- nahme		R.-Q.		CO ₂ pro Kilo und Stunde		O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normalperiode		Gewicht der Ratte	Dauer des Versuchs	Temperatur des Kastens	Bemerkungen
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%				
473	29. IV.	nücht.	0,29	1,02	0,99	0,748	4,71	4,57											54,10	4	20	
474	30. IV.	"	0,35	1,84	1,74	0,768	4,94	4,67											51,4	7,25	17—19	
475	2. V.	"	0,24	0,82	0,82	0,726	4,93	4,93											50,7	3,25	20	
476	3. V.	"	0,23	0,70	0,65	0,782	4,36	4,06											49,3	3,25	17	
477	4. V.	"	0,34	1,14	1,08	0,767	4,67	4,43											48,8	5	17—18	
478	6. V.	"	0,21	0,84	0,80	0,762	4,70	4,47											51,1	3,5	16—17	
479	7. V.	Unmittelbar vor dem Vers. 0,1 mg Pilocarpin hydr. subc.	0,65	1,65	1,71	0,701	4,91	5,09							4,70	4,52						
480	9. V.	Unmittelbar vor dem Vers. 0,5 mg Pilocarpin hydr. subc.	0,30	1,02	1,02	0,726	4,99	4,99											49,80	6,75	16—17	
481	11. V.	1. Std. vor dem Versuch 1,0 mg Pilocarpin hydr. per os	0,30	1,50	1,39	0,784	5,76	5,34											51,10	4	16—17	
482	13. V.	1. Std. vor dem Versuch 1,5 mg Pilocarpin hydr. per os	0,43	1,97	1,91	0,749	5,68	5,51									22,5	18,1	54,80	4,75	17,5	
483	14. V.	"	0,57	0,87	0,76	0,830	4,90	4,29									20	22	57,80	6	17	
484	20. V.	1 Std. vor dem Versuch 1 mg Pilocarpin hydr. per os	0,37	0,95	0,85	0,812	4,63	4,14											59,10	3	18—19	
											5,15	4,90					9,5	10,6	68,30	3	18—19	

Die Wirkung des Pilocarpins auf den Kohlenhydratstoffwechsel¹⁾ wurde von Stockvis, Falta, Eppinger und Ebstein sowie von Watermann studiert¹⁾. Stockvis sowie Watermann stellten bei Kaninchen nach Pilocarpininjektionen Glycosurien fest. Auch Hyperglykämie wurde von Watermann beobachtet. Bei Hunden und Kaninchen sahen Bornstein und Vogel²⁾ sowie C. Hornemann³⁾ starke Hyperglykämie nach subcutaner Pilocarpininjektion. Falta, Eppinger und Epstein fanden, daß Pilocarpin je nach der Dosierung Adrenalinhyperglykämie des Hundes verstärken oder schwächen kann. Von eigenen Erfahrungen über die Pilocarpinwirkung auf das Leberglykogen der Ratte möchte ich folgende Versuche kurz anführen. Zwei Ratten erhielten am 7. III. 1921 je 1,5 mg Pilocarpin hydr. subcutan. Am 8. III., 5 Stunden vor dem Tode, werden noch 2 mg Pilocarpin eingespritzt. Ernährung kohlenhydratreich (Mais, Milch, Zucker). Lebergewicht bei einer Ratte 4,45 g, bei der anderen 6,8 g. Die Analyse ergab nur Spuren von Glykogen in diesen Lebern. Die Lebern der Kontrolltiere waren glykogenreich. Nach Versuchen von C. Hornemann³⁾ am Hunde verschwindet bei der Pilocarpinhyperglykämie der größte Teil des Glykogens aus der Leber. Weniger stark wird das Glykogen des Muskels durch das Pilocarpin beeinflusst.

All diese Versuche beweisen, daß wir auch beim Pilocarpin sowohl die Wirkung auf den Kohlenhydrat- als auch auf den Gesamtstoffwechsel finden. Es sei noch hervorgehoben, daß nach Versuchen von M. Schapiro, einem Mitarbeiter von L. Asher (Basel 1917, Inaug.-Diss.) Pilocarpin die Harnsäurebildung in der überlebenden Schildkrötenleber begünstigt.

7. Versuche mit Atropin.

Über die Wirkung dieses parasymphatisch lähmenden Mittels auf den Stoffwechsel liegen einige Versuche von G. Kelemen⁴⁾ an curarisierten Hunden vor. Nach intravenöser Einspritzung von Atropin fand Kelemen bei einigen Tieren nur eine geringfügige Abnahme des Gaswechsels, hauptsächlich der CO₂-Ausscheidung. Die Wirkung des Atropins auf den Kohlenhydratstoffwechsel wurde neuerdings von A. Bornstein und R. Vogel⁵⁾ studiert.

Der Einfluß des Atropins auf den Gaswechsel der Ratten ist aus den Tab. XX, XXI und XXII ersichtlich. Bereits ein flüchtiges Studium dieser Ergebnisse lehrt, daß Atropin den Gaswechsel steigert und daß ebenso wie beim Adrenalin, Tyramin-Phenyläthylamin, Thyreoideastoffen u. a. die Stoffwechselwirkung längere Zeit anhält. In dieser Beziehung unterscheidet sich die Atropin- von der Pilocarpinwirkung. Die Pilocarpinwirkung ist nur kurze Zeit nach Einführung des Präparates sichtbar. Nach wiederholter Zufuhr von Atropin kann der Gaswechsel tagelang erhöht bleiben. Die Steigerung des Gaswechsels ist auch sehr bedeutend, ca. 35—45% (vgl. Versuche 489—506). Die Ergebnisse der Tab. XXI decken sich im allgemeinen mit denjenigen der Tab. XX. Ein etwas abweichendes Verhalten finden wir in der Tab. XXII. Nach einer subcutanen Injektion von 12 mg Atropin sulf. trat eine abnorm hohe Zunahme des Gaswechsels, die auch in diesem Fall (vgl. Versuche bei Pilocarpin) von einer Erniedrigung des Respirationsquotienten begleitet war (vgl. Versuch 529). In den nachfolgenden Tagen bewirkte aber die Atropininjektion keine Stoffwechselsteigerung. Sogar im Gegenteil: ein Vergleich der Tage mit und ohne Atropininjektion ergibt wiederholt,

¹⁾ Zit. nach J. Biberfeld, *Ergebn. d. Physiol.* **13**, 101—102. 1919.

²⁾ Bornstein und Vogel, *diese Zeitschr.* **118**. 1921.

³⁾ C. Hornemann, *diese Zeitschr.* **122**, 269. 1921.

⁴⁾ G. Kelemen, *diese Zeitschr.* **89**, 338. 1918.

⁵⁾ A. Bornstein und R. Vogel, *diese Zeitschr.* **122**. 274.

Tabelle XX. Wirkung des Atropins auf den Gaswechsel der Ratte (Männchen).

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme		CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde		CO ₂ O ₂ pro Kilo und Stunde		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ Im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Ge- wicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Temperatur des Kastens
			g	g	g	g	g	g	g	g	g	g	%	%			
485	5. II.	nicht.	0,51	1,92	1,87	0,746	2,73	2,66							140,6	5	20-21
486	8. II.	"	0,36	1,25	1,23	0,739	2,65	2,60							135	3,5	20-21
487	9. II.	"	0,41	1,84	1,74	0,768	2,43	2,29							135,8	5,6	21-21,5
488	11. II.	"	0,48	1,95	1,83	0,774	2,66	2,49							133,3	5,5	20-21
489	13. II.	7 mg Atropin sulf. subc.	—	—	—	—	—	—			2,62	2,51			—	—	—
490	14. II.	"	0,47	2,09	1,83	0,830	2,71	2,37							140,1	5,5	21
491	15. II.	"	0,30	1,47	1,37	0,779	2,56	2,38							135,3	4,25	21
492	16. II.	8 mg " "	0,42	2,50	2,37	0,766	2,73	2,59							135,6	6,75	20-21
493	18. II.	10 mg " "	—	—	—	—	—	—							—	—	—
494	19. II.	1/2 Std. v. d. Versuch 10 mg Atropin sulf. subc.	0,32	2,26	2,09	0,785	2,88	3,08							135,9	5	21-22
495	21. II.	"	0,29	2,28	2,22	0,746	2,89	2,81							137,4	5,75	20,5-21
496	22. II.	1/4 Std. v. d. Versuch 15 mg Atropin sulf. subc.	0,44	1,97	1,97	0,726	2,58	2,58					34,73	40	124,10	4,5	19,5-20
497	23. II.	"	0,33	1,19	1,16	0,745	3,10	3,01							128,2	3	20-21
498	25. II.	"	0,34	1,29	1,25	0,750	2,93	2,82							116,4	3,25	20-20,5
499	26. II.	"	0,47	1,90	1,83	0,754	2,93	2,82							117,8	5,5	20,5-21,5
500	28. II.	5 Stdn. v. d. Versuch 17 mg Atropin sulf. per os	0,38	1,61	1,54	0,759	2,88	3,66					46,2	45,81	120,1	3,5	20 21
501	1. III.	"	0,43	1,83	1,76	0,756	3,17	3,04							115,7	5	19-20
502	2. III.	Unmittelbar v. d. Vers. 10 mg Atropin sulf. subc.	0,50	1,55	1,41	0,799	2,65	2,82							121,2	3,5	20
503	4. III.	"	0,19	1,53	1,45	0,766	2,55	2,87							123,10	3,5	20
504	5. III.	"	0,50	2,07	1,99	0,756	2,56	2,43							122,30	4,75	19 20
505	7. III.	"	0,24	1,26	1,12	0,811	2,88	2,96							126	3	19 20
506	9. III.	"	0,20	1,33	1,24	0,779	2,87	2,85							127	3,20	20
507	11. III.	"	0,22	1,46	1,38	0,768	2,55	2,85							126,60	3,25	19-19,5
508	11. III.	"	0,32	1,90	1,85	0,746	2,72	2,62							120,2	4,25	19
										3,29	3,09		25,6	23,1			

Tabelle XXI. Wirkung des Atropins auf den Gaswechsel der Ratte.

(Männchen.)

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O- Bil- dung g	CO ₂ - Bil- dung g	O ₂ - Auf- nahme g	R.-Q.	CO ₂ O ₂		pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden		% Steigerung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Gewicht der Ratte g	Dauer des Ver- suchs Std.	Tem- peratur des Kastens in °
							CO ₂	O ₂	g	g	%	%			
507	31. V.	kein	0,43	0,95	0,87	0,793	3,07	2,82	88,3	3,5			88,3	3,5	21
508	1. VI.	"	0,87	1,57	1,52	0,750	2,99	2,90	92,5	5,25			92,5	5,25	21
509	3. VI.	"	0,36	1,15	1,07	0,781	2,71	2,52	92,90	4,25			92,90	4,25	22-23
510	8. VI.	"	0,59	1,17	1,05	0,809	2,87	2,58	96,1	4,25			96,1	4,25	24
511	10. VI.	"	0,69	1,55	1,51	0,746	2,95	2,88	95,4	5,5			95,4	5,5	22
512	11. VI.	"	0,24	1,15	1,11	0,753	2,99	2,89	96,0	4			96,0	4	22
513	14. VI.	"	0,25	1,05	1,95	0,803	3,21	2,91	100,5	3,25			100,5	3,25	22
514	17. VI.	3. Std. vor Beginn des Versuches					2,97	2,80							
515	20. VI.	15 mg Atropin sulfat per os 1. Std. vor Beginn des Versuches	0,38	1,48	1,41	0,762	2,74	2,61	108,1	5			108,1	5	22
516	25. VI.	17 mg Atropin sulfat subcutan 2. Std. vor Beginn des Versuches	0,66	2,10	1,89	0,807	3,79	3,41	110,7	5	29,95	22	110,7	5	23
517	30. VI.	30 mg Atropin sulfat subcutan	0,32	1,28	1,26	0,721	3,73	3,67	114,7	3	25,6	31	114,7	3	23
518	5. VI.	2 Std. vor Versuchsbeginn 45 mg Atropin sulfat subcutan . . .	1,10	2,72	2,58	0,766	3,30	3,13	110	7,5			110	7,5	22
519	8. VI.	"	0,77	1,50	1,41	0,773	3,61	3,39	110,8	3,75	21,20	21,80	110,8	3,75	22
520	9. VI.	"	0,73	1,84	1,74	0,768	3,63	3,43	112,7	4,5			112,7	4,5	22-23
521	11. VI.	"	1,33	2,55	2,44	0,759	3,94	3,77	103,5	6,25			103,5	6,25	22-23
522	15. VI.	"	1,08	1,76	1,55	0,824	3,53	3,11	104,8	4,75			104,8	4,75	23-24
		"	0,72	1,14	1,07	0,774	3,28	3,07	106	3			106	3	23-24
		"					3,50	3,29	18	14,89					24

Tabelle XXII. Wirkung des Atropins auf den Gaswechsel der Ratte.
(Männchen, älteres Tier.)

Nr. des Versuchs	Datum	Präparat	H ₂ O-Bil- dung		CO ₂ - Bil- dung		O ₂ - Auf- nahme	R.-Q.	CO ₂ / O ₂		pro Kilo und Stunde im Mittel während der einzelnen Perioden	% Stöckerung bzw. Senkung d. CO ₂ d. O ₂ im Vergleich mit dem Mittelwert der Normal- periode		Gewicht der Ratte	Dauer des Ver- suchs	Tem- peratur des Kastens
			g	g	g	g			g	g		%	%			
	1921													g	Std.	in °
523	1. III.	nücht.	0,36	1,79	1,66	0,783	2,73	2,54						218,1	3	20—21
524	2. III.	"	0,47	2,03	1,90	0,776	2,58	2,41						225,1	3,5	20—21
525	3. III.	"	0,28	1,69	1,50	0,799	2,68	2,38						229,7	2,76	20
526	4. III.	"	0,39	1,78	1,61	0,799	2,64	2,38						225,5	3	20—20,5
527	5. III.	"	0,66	2,29	2,14	0,777	2,72	2,54						234,0	3,6	20—21
528	7. III.	1 Std. vor Versuchsbeginn	0,34	2,34	2,25	0,756	2,48	2,39			2,67 2,45			229,80	4,1	21—22
529	8. III.	4 mg Atropin sulf. per os	0,54	4,29	4,64	0,672	4,79	5,18						224,10	4	20
530	9. III.	12 mg Atropin sulf. subc.	0,27	1,85	1,78	0,755	2,78	2,68		+80		+111,4		221,7	3	20
531	10. III.	2 Std. vor dem Versuch	0,22	2,19	2,16	0,737	2,46	2,43						222,2	4	20—21
532	11. III.	5 mg Atropin sulf. subc.	0,29	1,82	1,53	0,769	2,70	2,55						218,7	2,75	20
533	11. III.	10 mg Atropin sulf. subc.	—	—	—	—	—	—						—	—	—
534	12. III.	2 Std. vor dem Versuch	0,25	1,86	1,64	0,824	2,81	2,48						220,8	3	20—21
535	14. III.	15 mg Atropin sulf. subc.	0,20	2,30	2,24	0,746	2,27	2,22						224,6	4,5	21
536	15. III.	"	0,48	1,93	1,86	0,754	2,67	2,58				—15		218,6	3,33	20—21
537	16. III.	1 Std. vor dem Versuch	0,44	3,14	3,11	0,733	2,48	2,46						210,9	6	21—23
538	17. III.	20 mg Atropin sulf. subc.	0,14	1,48	1,39	0,773	2,32	2,18				—13,1		212,7	3	20
539	18. III.	2 Std. vor dem Versuch	0,16	1,59	1,50	0,765	2,48	2,36						212,3	3	22
540	19. III.	20 mg Atropin sulf. subc.	0,21	1,77	1,61	0,798	2,78	2,53			2,75 2,67			212,10	3	19—20

daß unter dem Atropineinfluß eine geringe Senkung des Gaswechsels auftritt (vgl. Versuche 535, 538, 539).

Ob sich diese Tatsache auf die vorhergegangene enorme Steigerung des Gaswechsels zurückführen läßt oder ob es sich dabei um die bekannte Umkehr kleinerer und großer Atropindosen oder ob schließlich individuelle Verschiedenheit des Tieres mitspielt, läßt sich nicht entscheiden.

Nicht nur beim Atropin und Pilocarpin, sondern bei den meisten der hier untersuchten Präparate finden wir die Abhängigkeit der Stoffwechselwirkung von der Größe der Dosierung. Eine genaue Erforschung dieser komplizierten Verhältnisse stellt ein Problem für sich dar. In vorliegender Arbeit handelte es sich aber bloß um eine Beantwortung der Frage, ob die typischen Vertreter der vegetativ angreifenden Substanzen zugleich auch den Stoffwechsel beeinflussende Substanzen sind.

Zusammenfassung.

In früheren Untersuchungen konnte gezeigt werden, daß Tyramin und Phenyläthylamin sowohl die Stickstoffausscheidung als auch den Gaswechsel sehr beträchtlich erhöhen. Auch Beziehungen zum Kohlenhydratstoffwechsel ließen sich auffinden. Nach Injektion von Tyramin und Phenyläthylamin findet man bei Ratten einen Glykogenschwund aus der Leber. Es wurde in einer der früheren Abhandlungen die Vermutung ausgesprochen, daß die Stoffwechselwirkung der genannten Amine mit ihrer ausgesprochen sympathisch erregenden Wirkung in Zusammenhang steht. Vorliegende Untersuchung beschäftigt sich mit einer näheren Analyse der Tyramin- und Phenyläthylaminwirkung auf den Stoffwechsel. Die Versuche in dieser Richtung führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Nicht nur Tyramin und Phenyläthylamin, sondern viele typische Vertreter der das vegetative Nervensystem angreifenden Stoffe beeinflussen die Stoffwechselvorgänge. Eine Erhöhung des Gaswechsels wird ebenso wie durch Tyramin-Phenyläthylamin auch durch Adrenalin einerseits, Cholin, Pilocarpin, Atropin andererseits herbeigeführt. Diese Stoffwechselerhöhung ist dabei oft von einer vermehrten Harnabsonderung begleitet.

2. Die hier geprüften sympathisch oder parasympathisch angreifenden Substanzen (Tyramin, Phenyläthylamin, Adrenalin, Cholin, Pilocarpin, Atropin, Schilddrüsenstoffe) beeinflussen außerdem ausnahmslos auch den Kohlenhydratstoffwechsel und verursachen Glykogenmobilisation, Hyperglykämie und Glycosurie. Diese Wirkung auf den Kohlenhydratumsatz darf nur als Teilerscheinung der allgemeinen Stoffwechselwirkung dieser Substanzen aufgefaßt werden. Der Kohlenhydratstoffwechsel ist ja eng mit dem gesamten Stoffumsatz des Organismus verknüpft und bei Veränderung des einen Teiles wird der andere Teil mitverändert.

3. Tyramin und Phenyläthylamin verstärken sich gegenseitig in ihrer Wirkung auf den Stoffwechsel. Die Tyramin-Phenyläthylamin-

wirkung läßt sich noch weiter erhöhen, wenn man diese Amine gleichzeitig mit anderen das vegetative Nervensystem angreifenden Stoffen, z. B. mit Schilddrüsensubstanz anwendet. Ganz geringe, an und für sich unwirksame Mengen von Tyramin und Phenyläthylamin geben in Gemeinschaft mit ebenfalls sonst unwirksamen Mengen von Thyreoidea-substanzen starke Erhöhungen des Gaswechsels. Bei einer solchen Anwendungsweise liegt die Möglichkeit vor, die therapeutisch notwendigen Thyreoideamengen sehr erheblich herabzusetzen.

Diese Ergebnisse sowie die früher beschriebenen Analogien zwischen der Stoffwechselwirkung der Thyreoideapräparate und des Tyramin-Phenyläthylamins machen es höchstwahrscheinlich, daß die Stoffwechselwirkung der Schilddrüse nur ein Ausdruck der allgemeinen Beeinflussung des vegetativen Nervensystems ist. Die vorliegenden Versuche sprechen auch dafür, daß dem vegetativen Nervensystem eine große Bedeutung bei der Regulierung der Höhe und der Art des gesamten Stoffumsatzes zukommt.

4. Wie bei vielen anderen das vegetative Nervensystem angreifenden Stoffen findet man auch beim Tyramin und Phenyläthylamin eine Abhängigkeit der Wirkung von der Dosierung und von der Applikationsart. In Gaswechselversuchen an Ratten und an einem schilddrüsenlosen Hund konnte gezeigt werden, daß bei peroraler Eingabe kleinerer Mengen von Tyramin und Phenyläthylamin der Gaswechsel herabgesetzt werden kann. Zugleich findet man oft eine deutliche Erhöhung des Respirationsquotienten als Ausdruck einer vermehrten Kohlenhydratverbrennung. Ebenso wie Tyramin-Phenyläthylamin verhält sich Adrenalin: Es erzeugt bei subcutaner Injektion bei den Ratten eine starke Zunahme des Gaswechsels, bewirkt aber bei peroraler Zufuhr eine Abnahme der CO_2 -Ausscheidung und des O_2 -Verbrauches.

In größeren Dosen rufen Tyramin-Phenyläthylamin auch bei peroraler Darreichung eine Erhöhung des Gaswechsels hervor.

5. Histamin hatte keinen Einfluß auf den Gaswechsel. Seine physiologische Wirkung ist überhaupt ganz anderer Natur als diejenige des Tyramins und Phenyläthylamins. Acetylcholin hat in den bisherigen Versuchen den Gaswechsel deutlich herabgesetzt.

Der Löhnersche Randwulst am keimfreien Hof als Stütze des Arndtschen Grundgesetzes.

Von
W. Seiffert.

(Aus dem Institut für experimentelle Therapie „Emil von Behring“ in Marburg.)

(Eingegangen am 6. Januar 1922.)

Mit 4 Abbildungen im Text.

Bei ihren Untersuchungen über die Entstehung von Randwülsten beschäftigen sich Cobet und van der Reis mit den Veränderungen, welche das Bakterienwachstum auf festen Nährböden erfährt, wenn unmittelbar an die bewachsene Zone ein keimfreier Bezirk des Nährmediums grenzt. Sie stellten fest, daß ein derartiges Angrenzen an keimfreie Felder bereits für sich allein genügt, um die Bildung eines Randwulstes auszulösen, und suchen die Erklärung in dem Ersatz der verbrauchten Nährstoffe aus dem anliegenden unausgenützten Nährboden heraus.

Da nun die sogenannte oligodynamische Randwulstbildung stets mit einem benachbarten keimfreien Hof kombiniert ist, kommen Cobet und van der Reis zu dem Schluß, daß auch hier augenscheinlich für die Bakteriengrenzschicht besonders günstige Ernährungsbedingungen bestehen, daß diese besondere Gunst der Verhältnisse zur Randwulstbildung vollkommen ausreicht, und daß man infolgedessen keineswegs gezwungen ist, auf eine wachstumssteigernde Einwirkung der oligodynamischen Einflüsse zurückzugreifen, wie es Löhner¹⁾, Friedberger²⁾, Süpfle³⁾ und ich⁴⁾ getan haben. So bestätigen sie denn in ihren Darlegungen ausdrücklich alle Befunde, die ich seinerzeit in der Greifswalder Medizinischen Gesellschaft demonstriert habe, lehnen aber den Zusammenhang mit dem Arndtschen Grundgesetz ab.

I.

An der Tatsache einer Randwulstbildung als Folge besonders günstiger Ernährungsbedingungen war schon im Hinblick auf die gleichartigen Mitteilungen Pringsheims^{4b)} von vornherein kaum zu zweifeln. Die Aufgabe, die es zu lösen galt, war somit weniger eine

Nachprüfung dieser Ergebnisse als ein experimenteller Vergleich zwischen dieser alimentären und unserer oligodynamischen Randwulstform. Insbesondere mußte es das Ziel sein, mit Hilfe oligodynamischer Einflüsse einen Randwulst zu erzeugen, der seine Unabhängigkeit von den vorliegenden Ernährungsbedingungen in sich selbst demonstrierte.

Leider stieß die Beschaffung einer größeren Menge von Silbermünzen auf erhebliche Schwierigkeiten; der Versuch, die geringe Zahl durch mehrmalige Verwendung auszugleichen, scheiterte an dem bereits von Doerr⁶⁾ beobachteten schnellen Abdiffundieren der wirksamen Substanz. Infolgedessen griff ich auf ein Verfahren zurück, das ich bereits vor längerer Zeit in einigen orientierenden Versuchen verwendet hatte, und das der von Cobet und van der Reis angegebenen Anordnung entsprechen dürfte. Ich stellte mir eine Mischung von flüssigem Agar und Elektrokollargol Heyden (konzentriert 10fach stark, Silbergehalt 0,6%) zu gleichen Teilen her, goß 15 ccm der Mischung in eine Petrischale (Durchmesser 10 cm) und stanzte aus dem erhärteten Substrat mit einem scharfrandigen Reagenzröhrchen 14 mm breite Scheibchen aus, die an Stelle der Münzen verwendet wurden.

Es ist hier nicht der Ort, auf die komplizierten chemischen und physikalisch-chemischen Bedingungen dieser Versuchsanordnung näher einzugehen*). Jedenfalls zeigte jede Agarplatte, die ein derartiges Kollargolscheibchen enthielt, nach 24stündigem Aufenthalt im Brutraum eine deutliche Verbreiterung des dunkelbraunen Kollargolbezirks und lieferte, mit dem Spatel beimpft, einen — allerdings nicht sehr großen — keimfreien Hof. Dieser Hof entsprach genau den Konturen des Scheibchens und ließ nach einigen Tagen einen deutlichen Randwulst erkennen, der freilich nicht so üppig war wie bei eingegossenen Silbermünzen; auch die Zonen der Wachstumshemmung, die das Arndtsche Gesetz verlangt, waren häufig genug vertreten. Die Kollargol-agarscheibchen schienen demnach für meine Versuche geeignet zu sein. — Auf Grund meiner früheren Ergebnisse wurden als Nährsubstrat ausnahmslos Endoagar, als Indicator für die oligodynamischen Vorgänge stets Colibacillen verwendet.

Meine erste Versuchsreihe verfolgte vor allen Dingen den Zweck, oligodynamischen und alimentären Randwulst nebeneinander zu erhalten. Dazu wurden die Agarplatten mit dem eingegossenen Kollargolscheibchen nach 24stündigem Aufenthalt im Brutraum bespatelt und gleich darauf halbiert; dann wurde die eine Hälfte entfernt und durch frisch zugegossenen Agar ersetzt. Es war also der eine Teil beimpft und enthielt Kollargol, der andere war unbeimpft und enthielt kein Kollargol.

*) Vgl. Freundlich, Capillarchemie 1920, S. 321, 332, 515 ff., 523.

Selbstverständlich kann eine derartige, bitemporär zusammengegos-sene Agarscheibe nicht einer einheitlichen Platte gleichgesetzt werden. Der Trennungsstrich bleibt stets deutlich zu sehen, und es gelingt unschwer, beide Hälften auseinanderzubrechen. Trotzdem ist die Verbindung augenscheinlich eng genug, um eine rege Diffusion zwischen beiden Teilen zu gestatten; liegen doch auch bei dem eingegossenen Kollargolscheibchen die Verhältnisse genau ebenso. Man konnte denn auch hier in derselben Weise, wie sich das Kollargol auf der primären Platte verbreitert hatte, deutlich einen in den angegossenen Agar hineindiffundierten, braunen Kollargolbezirk erkennen, der in schneller Abstufung endete. Wo aber Kollargol eindringen kann, dort darf man wohl auch ohne Bedenken mit einer Diffusion der Nährstoffe rechnen, zumal ja die nach denselben Grundsätzen hergestellten Kontrollplatten von Cobet und van der Reis bereits in positivem Sinn ausgefallen sind.

Diese Platten wurden zumeist 24 Stunden lang bebrütet und dann bei Zimmertemperatur gehalten. Bereits am ersten Tage zeigte sich

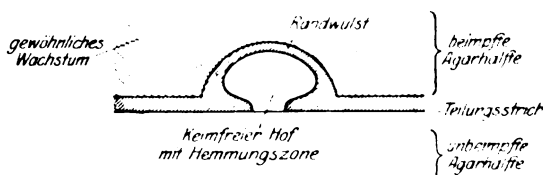


Abb. 1.

eine charakteristische Umgestaltung des keimfreien Hofes. Das Bakterienwachstum schnitt nicht in Form eines genau umrissenen Halbkreises ab, wie es dem

Kollargolscheibchen entsprochen hätte, sondern bog sich in der Nähe der Halbierungslinie beträchtlich an den braunen Kollargolkreis heran. Der keimfreie Hof erhielt dadurch das Aussehen einer Ellipse, an deren Längskante ein schmaler Streifen abgeschnitten worden ist. Es war ausgeschlossen, daß etwa die günstigeren Ernährungsbedingungen am Rande der unkeimfreien Agarhälfte diese Ablenkung veranlaßt hätten; derartige Differenzen in der Verteilung der Nährstoffe konnten überhaupt erst dann auftreten, wenn das Wachstum der Bakterien einen gewissen Grad erreicht hatte. Daß die Bakterien an der Grenzzone in einem viel geringeren Abstände von dem Kollargol zur Entwicklung gelangten als am Pol des keimfreien Hofes, konnte nur auf einer Diffusion des Kollargols in die kollargolfreie Agarhälfte beruhen, wie sie sich ja auch in der Nähe des braunen Scheibchens an der fortschreitenden Verfärbung deutlich erkennen ließ.

Nach einigen Tagen traten auf einer ganzen Anzahl Platten neben den üblichen Hemmungszonen auch Zonen des gesteigerten Wachstums auf. Den häufigsten Typus zeigt Abb. 1. An dem Pol des keimfreien Hofes, dessen Konturen genau konzentrisch mit denen des Kollargolscheibchens liefen, war der Wulst ziemlich schmal. Dort, wo das Bakterienwachstum nach dem Zentrum hin ellipsenförmig abbog,

d. h. wo ein Teil des Kollargols in die nachträglich eingegossene Agarhälfte abgewandert war, verbreiterte er sich dergestalt, daß sein äußerer Rand stets den Umrissen des Kollargolscheibchens entsprach, während die innere Grenze dem Bakterienwachstum folgte. Dann lief er rechts und links parallel zur Teilungslinie weiter.

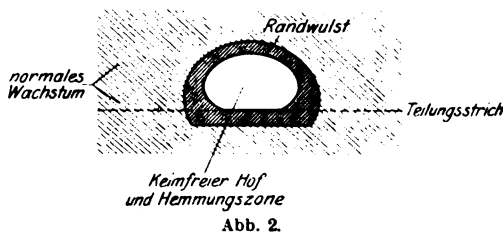
Diese Steigerung des Bakterienwachstums längs der Teilungslinie bestätigte zunächst die Angaben von Cobet und van der Reis über die Existenz alimentärer Randwulstformen. Dabei ließ dieser Randwulstbezirk in seiner äußeren Beschaffenheit keinen oder doch keinen durchgreifenden Unterschied gegen den Randwulst um den oligodynamischen keimfreien Hof erkennen; vielleicht war die Abgrenzung gegen die Zone des normalen Wachstums nicht so scharf. Andererseits konnte man die äußere kreisförmige Verbreiterung des Wulstes am Ellipsenrand nicht als Selbstverständlichkeit hinnehmen. Wollte man den gesamten Randwulst durch Ernährungsbegünstigung erklären, so konnte man sich zwar vorstellen, daß an sich die Nährstoffe aus den unbewachsenen Partien noch weiter diffundierten, als der Randwulst erkennen ließ, ohne aber zu einer sichtbaren Wachstumsförderung auszureichen; man konnte ferner an dem inneren Ellipsenwinkel des Bakterienrasens eine solche ungenügende Nährstoffdiffusion von zwei Richtungen aus in Rechnung setzen, von dem keimfreien Hof und von der angegossenen Agarplatte aus, und es war denkbar, daß diese Summation eine Verbreiterung des Randwulstes ergeben mochte. Eine solche Erklärung ließ jedoch die äußere kreisförmige Kontur unberücksichtigt; dieser Parallelismus mit den Umrissen des Kollargolscheibchens deutete ebenso nachdrücklich auf oligodynamische Zusammenhänge hin, wie er rein alimentäre Vorgänge unwahrscheinlich machte.

So wurde denn im weiteren Verlauf eine Kontrollserie angelegt. Eine Endoplatte wurde mit Colibacillen bespatelt, dann wurde ein ellipsenförmiges Scheibchen ausgestanzt, und am unteren Längsrande der ellipsenförmigen Lücke der Agar quer durch die ganze Platte hindurch abgeschnitten und entfernt. Auf diese Weise wurde ein beimpfter Bezirk erzielt, welcher dem Wachstum der Bakterien in Abb. 1 entsprach. Schließlich wurden die freien Teile der Petrischale wieder ausgegossen. Damit waren die gleichen Ernährungsbedingungen wie in dem vorigen Versuche geschaffen und sämtliche oligodynamischen Einwirkungen ausgeschaltet.

Wider Erwarten ergab auch diese Versuchsanordnung keine restlose Aufklärung. Die meisten Platten dieser Serie — (die noch einmal mit dem gleichen Resultat wiederholt wurde) — lieferten gar keinen Randwulst, und diejenigen Platten, die einen solchen erkennen ließen, waren nicht einheitlich. Zwar wurde niemals jene kreisförmige Verbreiterung erzielt, die den ersten Versuch charakterisierte; der Wulst

entsprach entweder genau der Grenzlinie des bakterienfreien angegossenen Agars, oder er schnitt den Winkel an der ausgestanzten Ellipse in schräger Linie ab. Die Zahl der positiven Ausfälle war aber eine zu geringe, um aus dem Ausbleiben einer bestimmten Form sogleich ihre Existenz an sich ausschließen zu dürfen. Immerhin blieb die Tatsache bestehen, daß ein dem oligodynamischen analoger alimentärer Wulst sich nicht hatte gewinnen lassen.

So wurde denn schließlich eine Versuchsanordnung aufgestellt, welche eine Veränderung der oligodynamischen Vorgänge unter konstanten Ernährungsbedingungen erstrebte. Die Agarplatte mit dem eingegossenen Kollargolscheibchen wurde 24 Stunden im Brutschrank belassen, dann halbiert, die eine Hälfte wurde durch frisch zugegossenen Agar ersetzt, und erst nach dem Erstarren und Trocknen die ganze Platte bespatelt. Der Erfolg dieser Versuchsanordnung ließ sich in keiner Weise voraussehen; er hing völlig von der Schnelligkeit der oligodynamischen Diffusion gegenüber dem Bakterienwachstum ab.



Das Ergebnis, das nach mehreren Tagen vorlag, zeigt Abb. 2. Wieder war der keimfreie Hof ellipsenförmig abgelenkt. Der Randwulst, der ihn umgab, war jedoch mit dieser Ablenkung nicht zu identifizieren.

ren. Zwar bog auch seine äußere Umgrenzung in der Nähe des Teilstriches ein wenig zentralwärts ein, doch war er hier unverkennbar verbreitert, genau wie es dem Resultat der ersten Versuchsanordnung entsprach. Die Nährstoffergänzung aus dem keimfreien Hof konnte unmöglich zu einer solchen Verbreiterung Anlaß geben. Dann aber kamen allein die oligodynamisch wirksamen Substanzen ursächlich in Frage. Offenbar waren sie in den ersten 24 Stunden vor der Teilung der Platte kreisförmig in den Agar hineindiffundiert, vielleicht sogar schon in demselben Umfange, wie ihn der Pol des keimfreien Hofes jetzt zeigte. Nach der Teilung der Platte war in den angegossenen kollargolfreien Agar ziemlich schnell ein Teil der bakteriotropen Substanz aus den angrenzenden Partien übergetreten; damit war ihre Konzentration in diesen Partien geringer geworden. In den zentralen Bezirken genügte sie zwar noch zur Keimabtötung und Hemmung; randwärts jedoch bestand, wie die äußere Einbiegung zeigte, gar keine Beeinflussung mehr. Zwischen diesen beiden Extremen dehnte sich der verbreiterte Randwulst als die gesuchte Arndtsche Zone der Wachstumsbegünstigung aus. Und wenn der ganze übrige Wulst alimentären Ursprungs sein sollte — diese Verbreiterung konnte nur oligodynamischer Herkunft sein.

Doch noch nach zwei Richtungen hin waren kontrollierende Untersuchungen erforderlich, einmal über die Diffusionsgeschwindigkeit in den ersten Stunden, sodann über die Diffusionsgeschwindigkeit in späterer Zeit. Letztere ließ sich bald demonstrieren: die eine Plattenreihe mit dem eingegossenen Kollargolscheibchen wurde schon nach 18, die andere erst nach 90 Stunden Brutaufenthalt beimpft. Die Größe der keimfreien Höfe war im großen und ganzen dieselbe.

Demgegenüber zeigte bereits die eben erkaltete Platte eine deutliche Verbreiterung der braunen Färbung um das Kollargolagarscheibchen herum. Um diese Diffusionsvorgänge in den ersten Minuten deutlicher zum Augenschein zu bringen, stellte ich mir Scheibchen aus Gentianaviolettagar (2 Teile Agar und 1 Teil konzentriertes, wässriges Gentianaviolett) her und umgöß sie mit flüssigem Endoagar. Fast auf der Stelle sah man den blauen Farbstoff in ziemlich weitem Umkreis in den Agar übertreten; offenbar boten die hohe Temperatur und der Solzustand recht günstige Bedingungen. Damit war auch die schnelle Anfangsdiffusion, die meine Kollargolversuche zur Voraussetzung hatten, aufgeklärt.

In gleicher Weise könnte übrigens vielleicht auch ein Phänomen seine einfache Deutung finden, das Cobet und van der Reis zu recht diffizilen Betrachtungen Anlaß gibt. Bei den meisten Bakterien fanden sie den keimfreien Hof in der Schüttelkultur schmäler als bei Oberflächenbeimpfung. Nun verwendet man aus Rücksicht auf die Bakterien zu Schüttelkulturen nur sorgsam abgekühlten Agar, während man gewöhnliche Platten meistens gießt, sobald der Agar aus dem Dampftopf kommt. Diese Temperaturdifferenz zusammen mit dem daraus folgenden kürzeren bzw. längeren Verharren im Solzustand könnte genügen, um Unterschiede in der Diffusion des wirksamen Substrats und damit in der Ausdehnung des keimfreien Hofes zu erklären, ohne auf entgiftende Stoffwechselprodukte zurückgreifen zu müssen; die Colibacillen bilden ja in beiden Fällen eine Ausnahme — vorausgesetzt, daß eine große Versuchsreihe ihr abweichendes Verhalten bestätigt.

II.

Die mir zur Verfügung stehenden Silbermünzen reichten leider nur zu einigen orientierenden Versuchen aus; dabei sei ausdrücklich betont, daß die Münzen — ebenso wie zuvor ein Teil des Kollargolagarscheibchens — wiederholt Ergebnisse lieferten, die die Frage nach der Ätiologie der Randwulstbildung offen ließen. Auf der anderen Seite war jedoch ein erheblicher Prozentsatz der Befunde mit der Annahme einer bloßen Nährstoffbegünstigung unvereinbar.

Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei den Platten mit Kollargol: der Agar wurde halbiert — (der Trennungsstrich lief am

Rande der Münze entlang) —; eine Hälfte, bald mit, bald ohne Münze, wurde entfernt und durch neuen Agar ersetzt. Die Beimpfung erfolgte in der ersten Serie vor der Teilung, in der zweiten nach dem ergänzenden Plattenguß; das eine Mal war also nur die halbe, das andere Mal die ganze Platte bewachsen.

Ein Abdiffundieren der wirksamen Substanz in den frischen Nährboden fand unverkennbar statt, gleichviel, ob das Silberstück in der

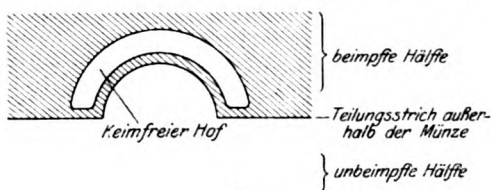


Abb. 3.

endgültigen Platte noch vorhanden war oder nicht. Abb. 3 zeigt das Bakterienwachstum auf einer Platte, die nach 24stündigem Aufenthalt im Brutraum beimpft und halbiert worden war; in der Petrischale war als beimpfter Teil die Hälfte ohne Münze belassen und durch

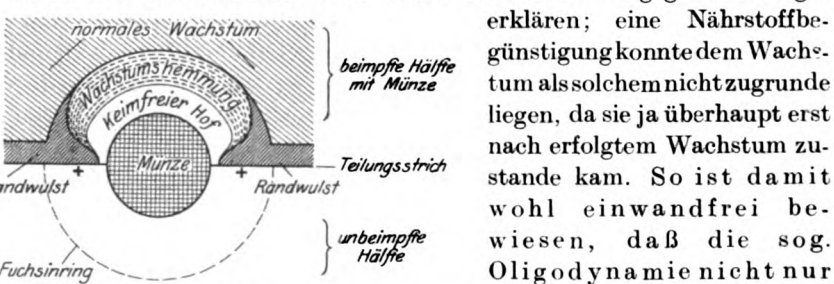


Abb. 4.

zugegossenen frischen Agar vervollständigt worden. Überall schob sich auf der bespatelten Hälfte zwischen den keimfreien Hof und den neuen Agar eine Zone kräftigen Wachstums ein. Da nun die Münze, wie eine Kontrollplatte ergab, andauernd oligodynamisch wirksam geblieben war, ließ sich diese Wachstumszone nur durch ein Abdiffundieren der bakterienfeindlichen Substanzen in den zugegossenen Agar

erklären; eine Nährstoffbegünstigung konnte dem Wachstum als solchem nicht zugrunde liegen, da sie ja überhaupt erst nach erfolgtem Wachstum zustande kam. So ist damit wohl einwandfrei bewiesen, daß die sog. Oligodynamie nicht nur den Diffusionsgesetzen

folgt, sondern direkt einen Diffusionsvorgang darstellt [vgl. Bechold⁵⁾, Dörr⁶⁾, Laubenheimer⁷⁾, Süpfle³⁾ usw.]. Die Randwulstbildung entsprach in einem Teil der Fälle durchaus den Befunden bei Kollargol. Besonders charakteristisch waren die Platten mit portugiesischen Silbermünzen (Abb. 4). Um die Münze herum lagerte ein eingeschnürter keimfreier Hof; an ihn schloß sich eine etwa 1½ cm breite, in zwar dichtem, aber kümmerlichem Rasen bewachsene Zone der Hemmung an. Ob sich zwischen diese Zone und den normalen Entwicklungsbereich noch ein Bezirk gesteigerten Wachstums schob, ließ sich an dem Pol des Hofes infolge der bunten Farbenspiele nicht einwandfrei feststellen. Ganz deutlich erhob sich

aber ein Wulst dort, wo die Hemmungszone nach innen umbog; er behielt, soweit man das beurteilen konnte, die Kreiskontur vollkommen bei; auf der anderen (unbeimpften) Agarhälfte entsprach ihm in genau den gleichen Abständen ein Fuchsinring. Rechts und links folgte der Wulst der Teilungsgrenze im Agar. — Die ganze Hemmungszone besaß einen lebhaften metallischen Glanz; im Randwulst reichte er bis zu den mit + bezeichneten Stellen.

Dieser Befund ist nicht nur durch seine Übereinstimmung mit den Kollargolagarscheibchen bemerkenswert. Einmal treten die Zusammenhänge zwischen Randwulst und Oligodynamie durch den korrespondierenden Fuchsinring in besonders auffallender Weise hervor. Sodann ist noch die Zone der Wachstumshemmung beachtenswert; sie war derart breit und behielt ihren Hemmungscharakter derart hartnäckig bei*), daß sie — im Gegensatz zu der bloßen Wachstumsverzögerung bei Cobet und van der Reis — ihren Dauertypus als Hemmungsbezirk eindeutig dokumentierte. Von Interesse ist schließlich noch das Übergreifen des Randwulstes auf die endständigen, metallisch glänzenden Bakterien; da in allen übrigen Teilen der metallisch glänzenden Zone die unmittelbare Nachbarschaft des keimfreien Hofes nicht ausgereicht hatte, um das Wachstum in merklicher Weise zu fördern, darf man wohl auch hier eine derartige Ätiologie ausschließen. Wahrscheinlich war in diesen Bezirken durch das Angießen des heißen Agars ein schnelles Abdiffundieren der oligodynamischen Substanzen ausgelöst worden; der Nachschub aus den entfernten, von der Temperaturdifferenz unberührten Partien erfolgte jedoch so langsam, daß eine keimtötende Anhäufung der fraglichen Stoffe nicht mehr zustande kam, trotz der metallischen Imprägnierung. — Alles übrige ist bei den entsprechenden Kollargolagarscheibchen bereits gesagt.

Auch jene andere Versuchsanordnung, bei der die Beimpfung erst nach der Halbierung und nach dem Eingießen des neuen Agars erfolgte, lieferte eine Anzahl Platten, deren Befunde sich mit den Ergebnissen der Kollargolversuche durchaus deckten. Es waren das regelmäßig diejenigen Platten, in welche die erwähnten portugiesischen Silbermünzen und bestimmte deutsche Jubiläumsstücke eingelassen worden waren. Für sie alle war es — ebenso wie bei den Versuchen mit Kollargol — charakteristisch, daß sich der oligodynamische Randwulst in seiner äußeren Gestaltung von dem alimentären kaum unterschied und nur indirekt differenziert werden konnte.

Ein ganz anderes Bild ergaben die gewöhnlichen deutschen Einmarkstücke der Vorkriegszeit. Auch hier machte sich ein Abdiffundieren der oligodynamischen Substanzen in den nachträglich eingegossenen Agar an einer doppelseitigen Einengung des keimfreien Hofes bemerk-

*) Die Platten wurden 12 Tage lang beobachtet.

bar, doch war die übergreifende Wachstumszone zu schmal, um über eine etwa hier vorhandene Verbreiterung des Randwulstes ein Urteil über ein Scheinbar hinaus fällen zu können. Dafür war der Wulst so üppig und besaß einen so lebhaften Glanz, daß daneben der alimentäre Randwulst an dem Teilungsstrich längs der unbeimpften Agarhälfte vollkommen verschwand. Ein einfaches Hinsehen genügte, um den grundverschiedenen Charakter beider Bildungen darzutun. — Daß es innerhalb der oligodynamischen Randwülste solche Differenzen wie in den hier geschilderten Typen überhaupt gibt, ist bei der voraussichtlich sehr verschiedenen Zusammensetzung der diffundierenden Substanzen je nach dem Metallgehalt der Münze, der Art der Legierung usw. nicht gerade verwunderlich, mit einer einheitlichen Ernährungsätiologie dagegen kaum zu vereinen. Innerhalb der beiden Gruppen waren die Bildungen stets gleichartig.

Das Material, das diesen Versuchen zugrunde liegt, ist freilich nicht übermäßig groß. Es wurden ca. 80 Platten mit Kollargolscheibchen, 35 mit den verschiedensten Silbermünzen und 20 ausgestanzte Kontrollplatten angelegt. Auf einem großen Teil der Platten gelang es zudem nicht, den Randwulst bzw. seine erstrebte Verlagerung zu erzielen: positiv in unserem Sinne waren etwa 25%. Ich glaube jedoch, daß hier, wo es sich allein um die Frage handelte, ob der Randwulst oligodynamischer oder alimentärer Herkunft sei, jede einzelne Platte, welche seine Unabhängigkeit von den Ernährungsbedingungen und seine engen Beziehungen zur oligodynamischen Diffusion demonstrierte, eine weit höhere Bedeutung besitzt als eine selbst mehrfache Anzahl unentschiedener (niemals etwa widersprechender) Befunde.

So haben denn diese Versuche zwar die Möglichkeit einer Randwulstbildung auf Grund besonders günstiger Ernährungsbedingungen im Sinne von Cobet und van der Reis grundsätzlich bestätigt. Dennoch steht die Tatsache einer Wachstumssteigerung im Zusammenhang mit oligodynamischen Einflüssen — also mit Einflüssen, deren keimtötende und wachstumshemmende Eigenschaften unbestritten sind — nach wie vor fest. Die experimentelle Darstellung des Arndtschen Grundgesetzes mit Hilfe des Plattenverfahrens bleibt wohlfundiert.

III.

In ihren Ausführungen gehen Cobet und van der Reis mehrfach auf die theoretischen Grundlagen der von ihnen beobachteten Diffusionsvorgänge ein, um aus solchen Überlegungen heraus praktische Schlüsse zu ziehen. Der Weg, den sie beschreiten, ist ein recht einfacher. Sie übertragen im allgemeinen die Diffusionsgesetze für flüssige Medien auf die Prozesse, die sich in ihren Agarplatten abspielen.

Derartig einfach liegen die Verhältnisse aber nicht. Es lassen sich schon bei reinen Gelen die gewöhnlichen Diffusionsgesetze nicht ohne weiteres anwenden, da in einem Gel zwei Diffusionswege zur Verfügung stehen, das Gelgerüst selbst und die Flüssigkeit in den Hohlräumen des Gels [Bechhold und Ziegler⁸⁾]. Die Diffusion in Gelen nähert sich in hohem Maße der Durchlässigkeit von Membranen, d. h. die lyotropen Eigenschaften der diffundierenden Substanz spielen eine wichtige Rolle (vgl. Freundlich l. c. S. 516). Es ist also nicht angängig, in einer Gallerte Diffusionsergebnisse, die mit arseniger Säure erzielt wurden, kurzerhand auf oligodynamische Prozesse zu übertragen.

Vor allen Dingen aber handelt es sich bei einem Nähragar gar nicht um ein bloßes Agargel, sondern um einen äußerst kompliziert zusammengesetzten Nährboden. Schon allein der Salzgehalt ist imstande, sämtliche Bedingungen grundlegend zu verändern. Einmal wird die Diffusion als solche durch Elektrolyte beeinflusst, durch Kochsalz z. B. beschleunigt (Bechhold und Ziegler l. c.). Vollkommen unübersichtlich werden die Verhältnisse jedoch dort, wo chemische Bindungen der diffundierenden Substanz in Frage kommen. Wir wissen gar nicht, wieviel von der eingegossenen arsenigen Säure, wieviel von den oligodynamischen Substanzen überhaupt zu freier Diffusion gelangt; wir wissen nicht, in welchem Maße die gebundenen Substanzen entgiftet werden usw. *) [s. Endler⁴⁷⁾, Szűsz⁴⁸⁾, Drechsel⁴⁹⁾, v. Linden⁵⁰⁾ u. a.].

Schließlich sind Bakterien ein derartig variabler Indicator, daß man jedem quantitativen Vergleich zwischen der Größe der keimfreien Höfe, der Ausdehnung der Hemmungszone usw. mit großen Bedenken gegenübertreten muß. In meinen Versuchen haben die Platten

*) Zu den Bemerkungen der Autoren über die Liesegangschen Ringe sei auf die Arbeit von Bechhold in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 1905 verwiesen. Bei einem derart komplizierten Vorgang kommt der Deutung von Cobet und van der Reis nur die Rolle einer Möglichkeit unter vielen Möglichkeiten zu.

Ich habe in früheren Versuchen mit Kupfervitriolagarscheibchen ausgesprochene Liesegangsche Ringbildung auch in sterilen Platten erhalten. Die Anwesenheit bakterieller Stoffwechselprodukte ist also an sich nicht erforderlich. Nun blieb zwar bei Cobet und van der Reis die Ringbildung in sterilem (bzw. oberflächlich beimpftem) Agar aus, während sie sich in Schüttelkulturen einstellte; und es ist natürlich durchaus möglich, daß die Ringbildung bakteriell ausgelöst wurde, insbesondere, wo von Fürst⁵¹⁾ derartige Beobachtungen bereits vorliegen. Darum braucht aber das auslösende Moment noch nicht chemischer Natur zu sein. Die Liesegangsche Ringbildung steht zu dem Elastizitätsgrad der Gallerte in enger Beziehung, und fraglos ist dieser Elastizitätsgrad in einer koloniedurchsetzten Schüttelkultur ein ganz anderer, als in einem lückenlos zusammenhängenden Agar. Den chemischen Folgerungen von Cobet und van der Reis fehlt also die erforderliche Grundlage der gleichen physikalischen Bedingungen. Es sind eben selbst die scheinbar plausibelsten Vorstellungen über die chemisch-physikalischen Eigenheiten eines Nährbodens in Wirklichkeit viel zu unsicher fundiert, um kritikbeständige Analogieschlüsse zuzulassen.

ein und derselben Serie trotz peinlichster Identität der Bedingungen nur ausnahmsweise gleichartiges Wachstum ergeben.

Wollen wir ehrlich sein, so haben wir weder den Prozeß, den wir untersuchen, noch den Indicator, der uns die Vorgänge anzeigt, in der Hand. Der Versuch, die verschiedenartigsten chemisch-physikalischen Prozesse im Nähragar in allgemeingültige Gesetzmäßigkeiten zu fassen und miteinander in Analogie zu bringen, würde auch dann der tatsächlichen Berechtigung entbehren, wenn er von richtigen Voraussetzungen ausginge.

Weit eher als der Gedanke an quantitative Vergleiche und ins einzelne gehende theoretische Entwicklungen könnte ein Zweifel aufsteigen, ob eine so unübersichtliche Methodik überhaupt allgemeine Schlußfolgerungen zuläßt. Doch die Frage, die es hier zu lösen galt: „Läßt sich die Wachstumssteigerung am oligodynamischen keimfreien Hof in direkte Beziehung zu den wirksamen diffundierenden Substanzen setzen?“, ermöglichte eine so einheitliche und auf das Tatsächliche beschränkte Versuchsanordnung, daß man die bejahende Antwort des Experimentes wohl gelten lassen darf.

Die allgemeinen Konsequenzen aber, welche diese bejahende Antwort mit sich bringen könnte, darf man wohl um so ruhiger ziehen, als von allen Seiten her immer wieder neue Angaben erfolgen, die das Arndtsche Grundgesetz mit einer Fülle von Tatsachen belegen.

Die günstige Beeinflussung des Hefewachstums und der Hefegärung durch minimale Mengen sogenannter Antiseptica und ähnlicher Substanzen wie Sublimat, Flußsäure, arsenige Säure, Chromsäure, Kupfersulfat, Kaliumpermanganat, Schwefel-, Phosphor-, Benzoë- und Salicylsäure, Salvarsan, Resorcin u. dgl. haben besonders Fleck³²⁾, H. Schulz¹¹⁾, Biernacki¹²⁾, Effront¹³⁾, A. Koch³⁸⁾, Pozzi-Escot³⁹⁾, Krüger³³⁾, Euler⁴⁰⁾, Fred⁴¹⁾ und Bokorny⁴²⁾ zum Gegenstand eingehender Untersuchungen erhoben; besonders instruktiv sind die Reizkurven Sahléns [bei Euler und Lindner⁴⁵⁾]; und wie sie alle bei der Hefe, so kommen Javillier³⁹⁾, Richards¹⁴⁾, Kosinski¹⁵⁾, Richet¹⁶⁾, Pringsheim⁵¹⁾ und Ono¹⁷⁾ bei Schimmelpilzen und Milchsäurebakterien zu einem positiven Resultat. Eine Beschleunigung der Beweglichkeit konstatierte Liachowetzki¹⁸⁾ bei Typhusbacillen und Cholera vibriionen unter stark verdünntem Carbol oder Sublimat (unter Sublimat nur bei Typhusbacillen). Hüne¹⁹⁾, der das Verhalten der verschiedensten Bakterien gegenüber schwachen Lösungen von Sublimat, Kupfersulfat, Fluor, Thymol, Alkohol, Äther, bactericiden Seris usw. einer Prüfung unterzog, sah die Vermehrungsenergie ausnahmslos in solchem Maße angeregt, daß er für die allgemeine Gültigkeit des Arndt-Schulzeschen Grundgesetzes mit besonderer Wärme eintreten zu müssen glaubt; ihm schließt sich Fred⁴¹⁾ auf Grund eines überaus reichhaltigen Materials rückhaltlos an. Maassen²⁰⁾ beobachtete bei Bakterien Riesenformen und eine auffallende Üppigkeit des Wachstums nach kleinen Mengen der sonst als Hemmungssubstanzen geltenden Lithiumsalze; Zeiß⁴³⁾ sah Anregung durch Eosin. Eine gesteigerte Vegetation des *Aspergillus niger* beschreibt Lepierre²¹⁾ nach Zusatz

*) Ähnliche Angaben finden sich übrigens bereits bei Liebig, Pasteur, Nägeli, Raulin [s. Hüne¹³⁾, Fred⁴¹⁾, Euler und Lindner⁴⁵⁾].

von Zink, Kanter²²⁾ nach Zusatz verschiedener Schwermetallsalze. Trillat und seine Mitarbeiter²³⁾, ²⁴⁾ schildern den wachstumbegünstigenden Einfluß geringer Mengen in Wasser gelöster, an sich keimwidriger Fäulnisgase auf Bakterien usw. Pfeiffer und Simmermacher heben die stimulierende Wirkung einer kurz dauernden Röntgenbestrahlung⁴⁴⁾, Molisch²⁵⁾ sowie Petit und Ancelin²⁶⁾ einer Spur Radiumemanation auf keimende Pflanzen hervor [ähnlich Furlani⁵²⁾, K. Seifert⁵³⁾, Stoklasa⁵⁴⁾ bei Bakterien]. Bokorny²⁷⁾ beobachtete eine Förderung des Keimungsprozesses, wenn er Kresse- und Gerstensamen zwischen Fließpapier legte, das mit stark verdünnten Lösungen von Kupfersulfat, Sublimat, Natronlauge, Äthylamin usw. angefeuchtet worden war; ähnliche Ergebnisse²³⁾ erzielte er bei Leguminosen durch geringe Mengen von Rubidium-, Lithium- und Cäsiumsalzen. In der Wasserkultur erreichte Kanda²⁹⁾ Wachstumsförderung durch Fluornatrium, und Grafe und v. Portheim³⁰⁾ vermuten bei minimal konzentriertem Formaldehyd eine formative Reizwirkung auf höhere Pflanzen. Dem gesellen sich noch aus neuester Zeit französische Berichte über die entwicklungsbegünstigenden, bzw. -hemmenden Eigenschaften der seltenen Erden (Lathan, Cerium usw.) Bakterien gegenüber bei³¹⁾ — ganz abgesehen von den zahlreichen Arbeiten über die anregende Wirkung, welche die verschiedensten als giftig geltenden Substanzen (Lithium, Zink, Kupfer, Naphthalin, Aluminiumsalze usw.) auf das Pflanzenwachstum auszuüben vermögen, wenn sie dem Boden spurenweise zugesetzt werden, die jedoch hier der unübersichtlichen chemischen Verhältnisse halber [vergl. Loew³²⁾] keine Berücksichtigung finden soll.

Jedenfalls fügt sich die wachstumsfördernde Komponente der sog. Oligodynamie mühelos in eine große Zahl von Beobachtungen ein, die aus den verschiedensten Gebieten der Biologie zusammenströmen, um von dem Arndtschen Grundgesetz als Ausfluß ein und desselben Prinzips umfaßt zu werden.

Und allmählich mehren sich ja auch die Stimmen, die diesem Gesetz auch im menschlichen und tierischen Organismus seine Gültigkeit zugesprochen wissen wollen. Mit besonderer Energie tritt Bier³³⁾ und seine Schule³⁴⁾ dafür ein, Weichardts Anschauungen bewegen sich in diesem Punkte wohl in denselben Bahnen³⁵⁾, und das Tierexperiment gibt ihnen recht: die Versuche, die in unserem Institut unter Leitung Herrn Geheimrat Uhlenhuths über die Chemotherapie der Kaninchensyphilis angestellt werden, haben es wiederholt bewiesen, daß dasselbe Präparat, welches bei richtiger Dosierung den Hodentumor binnen kurzer Zeit zum Schwinden bringt, ihn bei zu schwacher Konzentration zu erheblicher Proliferation anzuregen imstande ist.

Wie wir uns diese Vorgänge des näheren deuten sollen, steht noch nicht fest. Einen Erklärungsversuch gibt Kruse³⁶⁾ in seiner Allgemeinen Mikrobiologie: „Es ist durchaus nicht bewiesen, daß durch die Verdünnung die Giftigkeit . . . für das Protoplasma völlig beseitigt wird, ja vielleicht wahrscheinlich, daß sie bestehen bleibt, daß aber die Giftwirkung in diesen Fällen kompensiert und überkompensiert wird durch eine Gegenwirkung, eine ‚Reaktion‘ der Zelle, die sich nicht nur in der Bildung von giftneutralisierenden Stoffen, sondern auch in einer Steigerung des Gesamtstoffwechsels äußert.“ Zu einer ähnlichen Auf-

fassung sind auch Euler und Lindner gelangt (⁴⁵): „Tritt mehr Gift in die Zelle ein, als unter normalen Verhältnissen gebunden oder zerstört werden kann, so sucht die Zelle genügende Mengen des neutralisierenden Stoffes oder eines Oxydationskatalysators zu produzieren und dadurch ihr Plasma unbeschädigt zu erhalten. Mit dieser Produktion von Schutzstoffen oder Oxydationsmitteln ist bis zu einem gewissen Punkte eine allgemeine Steigerung der Lebensprozesse verknüpft. Dringen hingegen noch weitere Giftmengen in die Zelle ein, so kann auch bei erhöhter Lebenstätigkeit das Protoplasmagift nicht mehr neutralisiert, komplex gebunden oder verbraucht werden, und eine Schädigung der Zelle muß die Folge sein.“

Zusammenfassung.

Es bestätigt sich, daß ein Randwulst sich bereits allein auf Grund einer Nährstoffbegünstigung entwickeln kann.

Bei der Bildung des oligodynamischen Randwulstes spielen jedoch experimentell nachweisbare, direkte Zusammenhänge mit den oligodynamisch wirksamen Substanzen die maßgebende Rolle.

Die Auffassung des oligodynamischen Randwulstes als eines Spezialfalles des Arndtschen Grundgesetzes besteht also zu Recht.

Die theoretischen Anschauungen, die Cobet und van der Reis über die Diffusionsvorgänge in Nährböden entwickeln, tragen dem komplizierten Charakter der tatsächlichen Verhältnisse zu wenig Rechnung.

Literatur.

- ¹) Löhner, Wien. klin. Wochenschr. 1919. — ²) Friedberger, Sitzungsber. d. Berl. Mikrobiol. Ges. 1921. — ³) Süpfle, Münch. med. Wochenschr. 1920. — ⁴) Seiffert, Münch. med. Wochenschr. 1920. — ⁵) Dörr, Biochem. Zeitschr. 1920, 1921. — ⁶) Bechhold, Kolloidzeitschr. 1919. — ⁷) Laubenheimer, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1921. — ⁸) Bechhold und Ziegler, Zeitschr. f. phys. Chem. 1906. — ^{8a}) Fürst, Arch. f. Hyg. 83. — ⁹) Bechhold, Zeitschr. f. phys. Chem. 1905. — ¹⁰) Freundlich, Capillarchemie. — ¹¹) Hugo Schulz, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 42. — ¹²) Biernacki, ebenda 49. — ¹³) Effront, Ann. Pasteur 1896*). — ¹⁴) Richards, Jahrb. wiss. Botan. 1897. — ¹⁵) Kosinski, ebenda 37. — ¹⁶) Richet, C. r. Acad. des Sciences. 114*). — ¹⁷) Ono, Zentralbl. f. Bakt. Abt. II, 9. — ¹⁸) Liachowetzki, Zentralbl. f. Bakt. 50. — ¹⁹) Hüne, ebenda, 48. — ²⁰) Maassen, Arb. a. d. k. Gesundheitsamt 21, ref. Baumg. Jahresh. 1904. — ²¹) Lepierre, C. r. Acad. des Sciences 158**). — ²²) Kanter, Inaug.-Diss. Petersburg 1903**). — ²³) Trillat und Fouassier, C. r. Acad. des Sciences 154**). — ²⁴) Trillat et Santon, ebenda 149**). — ²⁵) Molisch, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien. math.-naturw. Kl. I. Abt. 121**). — ²⁶) Petit et Ancelin, C. r. Acad. des Sciences 156**). — ²⁷) Bokor-

*) Ref. nach Kruse, Allg. Mikrobiol.

***) Ref. nach Maly, Jahresb. üb. d. Fortschr. d. Tierchemie 1900—1920.

ny, Biochem. Zeitschr. **50**. — ²⁸) Bokorny, ebenda, **43**. — ²⁹) Kanda, Journ. C. ll. of Science, Tokyo 19*). — ³⁰) Grafe und v. Portheim, Österr. Botan. Zeitschr. **59***). — ³¹) Girard, C. r. Soc. de Biol. 1921. — ³²) Loew, Landw. Jahrb. 1903*). — ³³) Bier, Münch. med. Wochenschr. 1921. — ³⁴) Zimmer, Berl. klin. Wochenschr. 1921. — ³⁵) Kaz Nelson, Weichardts Ergeb. 1921. — ³⁶) Kruse, Allg. Mikrobiol. S. 182. — ³⁷) Fleck, Vergleichende Versuche zur Feststellung des Wertes der Salicylsäure als Desinfektionsmittel, insbesondere als Pilz- und Hefegift, zit. nach Euler und Lindner. — ³⁸) A. Koch, Zentralbl. f. Ba't. II. Abt. **31**. — ³⁹) Zit. nach Euler und Lindner. — ⁴⁰) Euler, Fermentforschung I, ref. Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. **43**. — ⁴¹) Fred, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. **31**. — ⁴²) Bokorny, ibid. **47**. — ⁴³) Zeiß, Arch. f. Hyg. **73**. — ⁴⁴) Pfeifer und Simmermacher, Landw. Versuchsst. 86, ref. nach Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. **50**. — ⁴⁵) Euler und Lindner, Chemie der Hefe und der alkoholischen Gärung. — ⁴⁶) Pringsheim, Zentralbl. für Bakt. II. Abt. **51**. — ⁴⁷) Endler, Biochem. Zeitschr. **42**. — ⁴⁸) Szüsz, Jahrb. f. wiss. Bot. **52**. — ⁴⁹) Drechsel, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. **53**. — ⁵⁰) von Linden, ebenda, I. Abt. **83**. — ⁵¹) Pringsheim, Zeitschr. f. Bot. **6**. — ⁵²) Furlani, Sitzungsber. d. Akad. d. Wiss. Wien, math.-naturw. Kl. I, **128**. — ⁵³) K. Seifert, Mon.-Heft f. prakt. Tierheilk. 1920. — ⁵⁴) Stoklasa, Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. **40**.

*) Ref. nach Maly, Jahresb. üb. d. Fortschr. d. Tierchemie 1900—1920.

Die Oberflächenaktivität und die Giftwirkung der Saponine.

Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen physiologischer Wirkung und physikalischen Eigenschaften.

Von

Ludwig Kofler.

(Aus dem pharmakognostischen Institut der Universität Wien)

(Eingegangen am 7. November 1921.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Noch vor einigen Jahren wurden für die Deutung kausaler Zusammenhänge der nach Einverleibung irgendwelcher Substanzen in einen Organismus eintretenden Vorgänge überwiegend chemische Reaktionen der Substanz als unmittelbar veranlassend herangezogen. In neueren Arbeiten dagegen wird zur Erklärung der Reaktionsfolgen den physikalischen Eigenschaften der Verbindungen ein breiterer Raum gewährt und das in immer erhöhterem Ausmaße, je weiter die physikalische Chemie zum Ausbau gelangt.

Das klassische Beispiel für die Beziehungen zwischen physikalischen Eigenschaften und physiologischem Geschehen stellt die Meyer-Overtonsche^{1), 2)} Lipoidtheorie dar, die als heißumstrittenes Problem dauernd das Interesse der Forschung wach erhält. Während Verworn³⁾ das Wesen der Narkose in einer Behinderung des Sauerstoffzutritts zu den Zellen sieht, die Traubesche Haftdrucktheorie⁴⁾ einen Zusammenhang zwischen Giftwirkung und Oberflächenaktivität aufstellt, Mansfeld⁵⁾ und Bürker⁶⁾ zwischen Lipoid- und Verworn-scher Theorie zu vermitteln suchen, werden wiederum neuestens für die Lipoidtheorie stützende Argumente vorgebracht [K. H. Meyer und H. G. Billroth⁷⁾]. Um ein Beispiel aus jüngster Zeit zu nennen, sei auf die Arbeiten Zwaardemakers⁸⁾ hingewiesen, der der Radioaktivität eine wichtige Rolle für das Verhalten der Elemente zuschreibt. So soll das Kalium der Ringerlösung durch äquivalente Mengen eines anderen radioaktiven Elementes ersetzbar sein. Jacques Loeb⁹⁾ und A. J. Clark¹⁰⁾ konnten freilich diese Ansicht Zwaardemakers nicht bestätigen.

Zweck der vorliegenden Untersuchungen war es, festzustellen, ob bei verschiedenen Saponinen ein Zusammenhang bestehe zwischen der oberflächenspannungsniedrigenden Wirkung, als deren Funktion sich auch die Schaumbildung darstellt, und ihrer Giftigkeit.

Größenangaben über Oberflächenspannungsniedrigung von Saponinen finden sich in der neueren Literatur nicht so selten (Berczeller¹¹⁾, Knäfl-

Lenz¹²⁾, Schreuder¹³⁾]. Bei solchen Angaben besonders von physikalisch-chemischer Seite, wo es sich meist nur um Vergleichszwecke mit Seifenlösung oder anderen oberflächenaktiven Substanzen handelte, wird auf die Eigenart des verwendeten Saponins meistens nur durch Erwähnung der Bezugsquelle Rücksicht genommen. Nun ist aber das Wort Saponin bekanntlich ein Sammelname, und die einzelnen Glieder dieser Gruppe unterscheiden sich vor allem in ihren biologischen Wirkungen nicht unwesentlich von einander. So wies Kobert¹⁴⁾ darauf hin, daß das Guajaksaponin eine hohe Schaumkraft, aber fast keine hämolytische Wirkung besitzt. Er empfahl dieses Saponin daher als Zusatz zu Genußmitteln (Schaumgetränken usw.) an Stelle des häufig verwendeten giftigen Quillajasaponins. Woodward und Alsberg¹⁵⁾ verglichen die Wirkung einiger Saponine auf die Oberflächenspannung des Wassers mit ihrer hämolytischen Kraft und fanden, daß kein Parallelismus besteht.

Genauere quantitative vergleichende Untersuchungen über den Zusammenhang der physikalisch-chemischen Eigenschaften der Saponin-substanzen und ihr physiologisches Verhalten fehlten bisher, und doch ist von solchen Untersuchungen auch vom allgemein biologischen Standpunkt Interesse zu erwarten.

Kobert¹⁴⁾ verglich die Wirkung des sauren und neutralen Saponins aus Quillajarinde, der Quillajasäure und des Sapotoxins, in Lösungen verschiedener Konzentration auf Seetiere. Ein Unterschied zwischen beiden Substanzen war nicht wahrnehmbar. Dagegen war die Empfindlichkeit der untersuchten Tierarten eine sehr verschiedene. Auffallend widerstandsfähig erwiesen sich Krebse. Würmer, Cephalopoden, Schnecken, Seewalzen und Manteltiere verhielten sich ziemlich gleich, sie wurden von stärkeren Konzentrationen erst gelähmt, dann getötet. Alle Fische zeigten ihre Saponinen gegenüber bekannt hohe Empfindlichkeit. Koberts Versuchsanordnung bestand darin, daß er die Tiere in geräumige Glasgefäße mit 5—15 l Seewasser setzte, das die Saponine in steigender Verdünnung (1 : 1000, 1 : 2000 bis 1 : 300 000) enthielt. Zur Frischhaltung des Wassers wurde ständig Luft eingepreßt, nach spätestens 12 Stunden wurden die Flüssigkeiten erneuert. Für Koberts Fragestellung, dem Vergleich der Empfindlichkeit verschiedener Tierarten, war diese Versuchsanordnung genügend. Für exakte quantitative Vergleiche verschiedener Saponine haften jedoch der Methode einige Versuchsfehler an. Bei einer Versuchsdauer von mehreren Stunden machen sich bei manchen Tieren schon Schädigungen infolge Anhäufung von Exkrementen bemerkbar. Ferner führt Kobert an, ohne jedoch diesem Umstand nähere Beachtung zu schenken, „es bedeckten sich die Gefäße unter Einwirkung der eingetriebenen Preßluft sehr bald mit einem dicken weißen Schaum, der bergartig sich über dem Wasser anhäufte“. Hierbei mußte aber durch Anreicherung in der großen Oberfläche des Schaumes gemäß dem Gesetz von Gibbs - Thomson im Laufe des Versuches eine wesentliche Abnahme der Anfangskonzentration in der Flüssigkeit erfolgen. Endlich erlauben die verschiedenen Zeiten bis zum Eintritt der Lähmung oder des Todes keinen quantitativen Vergleich verschiedener Saponine. Es läßt sich überhaupt nach dieser Versuchsanordnung das Verhältnis der Wirkungsstärke der beiden Saponine nicht zahlenmäßig ausdrücken.

Um einen zahlenmäßigen Vergleich der Saponine zu ermöglichen, suchte ich für jedes einzelne Saponin jene Konzentration zu ermitteln, bei welcher das Versuchstier innerhalb einer bestimmten Zeit abgetötet wurde. Als Zeit wählte ich eine Stunde, um Schädigungen durch Anhäufung von Exkrementen und Sauerstoffmangel zu vermeiden. Ich

verwendete junge Rotaugen (*Leuciscus rutilus*) von 0,1–0,5 g Gewicht und 2–4 cm Länge; sie erwiesen sich in Kontrollversuchen im Gegensatz zu manchen anderen Arten und großen Tieren als besonders widerstandsfähig gegen Verunreinigungen des Wassers und Sauerstoffmangel. Die Tiere blieben in 100 ccm Wasser 24 Stunden fast ausnahmslos, häufig aber 48 und mehr Stunden, am Leben. Es war also von seiten dieser beiden Faktoren innerhalb einer Stunde sicher keine Schädigung zu erwarten. Auf die Größe der Fische innerhalb der angegebenen Grenzen mußte ich nach dem Ergebnisse zahlreicher Vorversuche keine Rücksicht nehmen, da selbst verhältnismäßig große Fische bis 4,5 g ebenso reagierten wie die kleinsten von 0,1 g. Diese Versuchsanordnung hat vor der gebräuchlichen Methode, bei gegebener Konzentration den Zeitpunkt des Eintrittes der Narkose oder des Todes abzuwarten, den Nachteil eines großen Fischverbrauches, dafür aber den Vorteil einer größeren Unabhängigkeit von zufälligen Ergebnissen, da zur Ermittlung der gesuchten Konzentration meist eine größere Versuchsreihe notwendig ist und ein Versuchsfehler oder ein abnorm über- oder unterempfindliches Tier sich beim Vergleich der Teilresultate sofort durch einen sprunghaften Verlauf der Kurve bemerkbar macht. Je ein Fisch wurde in 100 ccm Flüssigkeit gesetzt und der Eintritt des Todes abgewartet. In den ersten Minuten befanden sich die Tiere in heftiger Erregung, welche jene übertrifft, die die Tiere nach dem Versetzen von einem größeren in ein kleineres Gefäß auch ohne Saponinzusatz zeigen. Auf die anfängliche Erregung folgt in nicht allzu konzentrierten Saponinlösungen ein Stadium von anscheinend normaler Bewegung. Der Eintritt der Giftwirkung wird durch etwas unsicheres Schwimmen und zeitweises kurzdauerndes Einnehmen der Seitenlage angezeigt. Das Schwimmen in Seitenlage nimmt überhand, dazwischen Ruhestellung in Rückenlage, welche auf äußere Reize hin durch wildes stoßweises Umherschwimmen mit Fluchtversuchen unterbrochen wird. Allmählich sind immer stärkere Reize notwendig, um den Fisch zum Aufgeben der Rückenlage und zu Bewegungen zu veranlassen. Wenn die Reflexerregbarkeit erloschen scheint, zuckt der Fisch noch beim Herausheben aus dem Wasser. Die Kiementätigkeit zeigt sich während der Zeit der Rückenlage immer sehr kräftig und hält noch einige Zeit nach Erlöschen der Reflexerregbarkeit an. Der vollständige Stillstand der Kiementätigkeit wurde als Eintritt des Todes betrachtet und als Endtiter gewertet. Als Fischindex bezeichne ich im Folgenden jene Saponinkonzentration, bei der Rotaugen von 0,1–0,5 g Gewicht innerhalb einer Stunde abgetötet werden.

Der hämolytische Index wurde in der üblichen Weise unter Verwendung von defibriertem menschlichen Placentarblut in 2proz. Aufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung bestimmt.

Die Oberflächenspannungserniedrigung der wässrigen Lösungen wurde mit Hilfe des Traubeschen Stalagmometers bestimmt und auf die Normaltropfenzahl (Wasser = 100) umgerechnet.

Für die vergleichenden Untersuchungen verwendete ich folgende Saponine: Saponin. pur. albies. Merck; Sapindus-Saponin Hoffmann-La Roche; Digitonin-Merck; Primulin, das ich aus den Rhizomen und Wurzeln von *Primula veris* herstellte; ein Saponin, das vor Jahrzehnten im Institut dargestellt wurde, im Folgendem als I.-Saponin bezeichnet; Ruman-Saponin, ein dem Handel entnommenes Saponin, dem 60% der Schaumkraft des Quillajasaponins und nur $\frac{1}{10}$ seiner hämolytischen Wirkung nachgerühmt wurde, in Wirklichkeit war die Schaumkraft eine sehr geringe, der hämolytische Index aber viel höher als angegeben; Glycyrrhizin, das nach den Untersuchungen von Kobert¹⁶⁾ ebenfalls den Saponinen zuzuzählen ist.

Zunächst wurde der hämolytische und der Fischindex der genannten Saponine bestimmt und mit der Normaltropfenzahl der 1 proz. Lösungen verglichen. Beim hämolytischen und Fischindex ist der Kürze halber nur die Verdünnungszahl angegeben, also statt 1 : 1000 nur 1000.

Tabelle I.

Saponin	Normaltropfenzahl der 1 proz. Lös.	Hämolytischer Index	Fischindex
Glycyrrhizin	150,6	500	550
Digitonin	149,6	66,600	200,000
Kastanien-Saponin . . .	139,1	1250	1700
Ruman-Saponin	130,2	10,000	6450
Sapindus-Saponin . . .	123,8	28,500	10,000
I.-Saponin	122,3	33,300	10,000
Primulin	115,6	25,000	36,400
Saponin. pur. alb. . . .	112,0	25,000	11,000

Aus dieser Zusammenstellung ergibt sich, daß zwischen der Oberflächenspannungserniedrigung der einzelnen Saponine in 1 proz. Lösung und ihrer Toxizität keinerlei Zusammenhang nachweisbar ist. Das Glycyrrhizin mit der stärksten Oberflächenaktivität besitzt den kleinsten hämolytischen und Fischindex. Das I.-Saponin müßte nach der Stärke der hämolytischen Wirkung an zweiter Stelle stehen, nach der Normaltropfenzahl gehört es an die sechste Stelle. Das Primulin müßte nach dem Fischindex beurteilt auf das Digitonin folgen, obwohl es nach der Normaltropfenzahl an vorletzter Stelle steht. Hämolytischer und Fischindex gehen zwar nicht genau parallel, es läßt sich aber immerhin ein gewisser Zusammenhang zwischen der hämolytischen und der Wirkung auf Fische erkennen.

Für die Abhängigkeit der Oberflächenspannung von der Konzentration ist ein allgemeiner analytischer Ausdruck nicht bekannt¹⁷⁾.

Trägt man die Oberflächenspannungen als Ordinaten, die Konzentrationen als Abszissen auf, so sind die Kurven fast ausnahmslos gegen die Konzentrationsachse konvex oder zeigen ein Minimum. Für einen Bereich kleiner Konzentrationen genügt häufig für die Erniedrigung der Oberflächenspannung die Gleichung

$$\sigma_0 - \sigma_L = sc^n,$$

wobei σ_0 die Oberflächenspannung des Mediums, σ_L die Oberflächenspannung der Lösung, c die Konzentration und s und $1/n$ -Konstanten sind. $1/n$ variiert wenig von Stoff zu Stoff und hat meist einen Wert zwischen 0.2 und 1. Wählt man bei den Saponinen für die Bestimmung der Oberflächenspannung niedrigere Konzentrationen, so tritt eine wesentliche Verschiebung der Reihenfolge ein. Tabelle II gibt die Normaltropfenzahl der 0,1proz. Saponinlösungen an. Die Reihenfolge der Saponine zeigt sich wesentlich geändert, trotzdem läßt sich auch hier kein Zusammenhang zwischen Oberflächenspannung und Giftigkeit erkennen.

Tabelle II.

Saponin	Normaltropfenzahl] der 1proz. Lösung	Hämolytischer Index	Fischindex
Digitonin	142.8	66,600	200,000
Glycyrrhizin	123.4	500	550
Sapindus-Saponins	116.3	28,500	10,000
Ruman-Saponin	108.5	10,000	6,450
Primulin	108.0	25,000	36,400
Saponin. pur. alb.	107.5	25,000	11,000
L-Saponin	106.6	33,300	10,000
Kastanien-Saponin	103.1	1,250	1700

Da die Reihenfolge der Saponine nach ihrer Oberflächenaktivität geordnet so sehr wechselt, je nach der Konzentration, bei welcher die Spannungserniedrigung bestimmt wurde, wird es von vornherein anzustreben sein, für Vergleichszwecke zwischen ihr und der Toxizität die Oberflächenspannung jener Konzentrationen zu messen, bei denen die biologischen Versuche angestellt werden. Die Bestimmung des hämolytischen Index aber ist an eine bestimmte Konzentration gebunden. Dabei ist die Verdünnung bei den meisten Saponinen eine so starke, daß die Bestimmung der Oberflächenspannung mit Hilfe des Stalagmometers zu ungenau würde. Für die Bestimmung des Fischindex gilt dieselbe Schwierigkeit. Ich wählte daher den umgekehrten Weg, indem ich bei gleichbleibender Konzentration die Giftigkeit prüfte. Bei je zwei Saponinen wurde nach Bestimmung der Normaltropfenzahl bei steigenden Konzentrationen die Kurve der Oberflächenspannung gezeichnet und bei beiden Saponinen zweimal bei der gleichen Konzentration die Giftigkeit Fischen gegenüber festgestellt, einmal vor und

einmal nach dem Schnittpunkt der Kurven. Wie die abgebildete Kurve ergibt, setzt das Sapindus-Saponin in verdünnten Lösungen bis ungefähr 0,4% die Oberflächenspannung stärker herab, dann durchschneiden sich die Kurven und die oberflächenspannungserniedrigende Wirkung des Kastanien-Saponins nimmt nun bedeutend rascher zu als die des Sapindus-Saponins. Ginge die physiologische Wirkung parallel der Oberflächenspannungserniedrigung, so müßte in 0,1proz. Lösung das Sapindus-Saponin, in 1proz. Lösung das Kastanien-Saponin giftiger sein. Dies ist aber nicht der Fall, vielmehr ist das Sapindus-Saponin sowohl in 0,1proz. als auch in 1proz. Lösung erheblich giftiger als das Kastanien-Saponin. Mehrere gut übereinstimmende Versuche ergaben als Mittelwerte für die Zeit bis zum Absterben der Fische:

Sapindus-Saponin
0,1proz. Lösung 11'
1proz. Lösung 5'

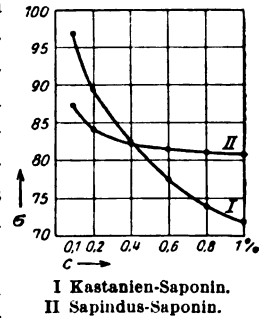
Kastanien-Saponin
0,1proz. Lösung 25'
1proz. Lösung 10'.

Ähnlich wie Sapindus- und Kastanien-Saponin verhalten sich auch manche andere Saponine. Aus Tabelle III ist ersichtlich, daß Schnittpunkte der Oberflächenkonzentrationskurven (σ -c-Kurven) bei den Saponinen häufig vorkommen, beispielsweise zwischen Digitonin und Glycyrrhizin, Sapindus- und Ruman-Saponin, Saponin. pur. alb. und I.-Saponin. Die beiden letzten Rubriken der Tabelle geben die Zeit in Minuten an bis zum Eintritt des Todes der Fische in 0,1proz. und in 1proz. Lösung. Dabei ist unbekümmert um das wechselnde Verhältnis der Tropfenzahlen das Digitonin immer giftiger als das Glycyrrhizin, Sapindus-Saponin giftiger als Ruman-Saponin, Saponin. pur. albiss. giftiger als I.-Saponin.

Tabelle III.

Saponin	Normaltropfenzahl		Fisch tot in Minuten	
	0,1proz. Lös.	1proz. Lös.	0,1proz. Lös.	1proz. Lös.
Digitonin	142,8	149,6	4	3
Glycyrrhizin	123,4	150,6	81	8
Sapindus-Saponin	116,3	123,8	11	5
Ruman-Saponin	108,5	130,2	12	9
Primulin	108,0	115,6	7	5
Saponin. pur. albiss. . .	107,5	112,0	8	3
I.-Saponin	106,6	122,3	11	6
Kastanien-Saponin . . .	103,1	139,1	25	9

Nach Traubes⁷⁾ Haftdrucktheorie wäre zu erwarten gewesen, daß bei so oberflächenaktiven Substanzen, wie es die Saponine sind, ein Zusammenhang bestände zwischen physiologischer Wirkung und Tropfenzahl. Der Haftdruck Traubes beinhaltet bekanntlich nicht nur die



Oberflächenaktivität, sondern auch die Löslichkeit, Adsorption, die osmotischen Eigenschaften, Reibung, Dispersität, die quellenden, flockenden und katalytischen Fähigkeiten, sowie das elektrische Potential und die elektrische Ladung. Der Haftdruck ist nach Traube die Anziehung zwischen gelöstem Stoff und Lösungsmittel. Je kleiner der Haftdruck ist (in bezug auf Wasser), um so größer ist die Oberflächenaktivität, ausgenommen sind so flüchtige Stoffe wie Chloroform. Nach dem Gibbs - Thomsonschen Gesetz reichern sich Substanzen, die die Oberflächenspannung erniedrigen, in der Oberfläche der Lösung an, solche, die sie vergrößern, im Innern. Zahlreiche Gifte, z. B. die Narkotica und viele hämolytische, sind Substanzen, welche die Oberflächenspannung des Wassers stark herabsetzen. Traube bezeichnet die Oberflächenaktivität als das Ausschlaggebende bei der physiologischen Wirkung, vor allem, weil sie die Anreicherung des Giftes an der Oberfläche der Zelle und sein Eindringen ins Innere erleichtert. Denn im allgemeinen haben Stoffe, welche einen geringen Haftdruck in Wasser besitzen, einen großen Haftdruck in Lipoiden und außerdem diosmiert eine oberflächenaktive Substanz aus der Phase mit geringerem Haftdruck rasch in die mit größerem Haftdruck. Bei nahe verwandten bzw. homologen Stoffen ist nach Traube die Oberflächenspannung der lipoiden Phase kaum verschieden, daher ist die Oberflächenspannung der wässerigen Phase allein bestimmend für die Schnelligkeit des Eindringens eines Stoffes in die Zelle. Die Oberflächenspannung ermöglicht also in bequemer Weise eine Bestimmung des Haftdruckes. Für homologe Reihen stellte Traube das bekannte Capillargesetz auf, wonach die hämolytische wie capillare Wirkung bei Anwendung äquivalenter Lösungen zunimmt im Verhältnis $1 : 3 : 3^2 : 3^3$. Er vergleicht auch Stoffe von ganz abweichender Konstitution, aber ähnlicher pharmakologischer Wirkung und findet auch hier einen Parallelismus zwischen Oberflächenspannungserniedrigung und Giftigkeit. Besonders zahlreiche Untersuchungen in dieser Richtung stammen von L. Berczeller¹⁸⁾, der unmittelbar aus den stalagmometrischen Messungen Schlüsse auf die Stärke der physiologischen Wirkung verschiedener Gifte zieht.

Gegen eine einseitige Wertung der Tropfenzahlen als Maß der Toxizität, wobei chemische Eigenschaften nur bisweilen herangezogen werden zur Erklärung der Abweichungen von der Theorie, wurde schon wiederholt von verschiedenen Seiten Einspruch erhoben. Die Traubesche Theorie setzt voraus, daß die Oberflächenspannung Lösung: Luft auch ein Maß sei für die Oberflächenspannung Lösung: Zellprotoplasma. Da Bestimmungen letzterer Art nicht durchführbar sind, verglich v. Knaffl - Lenz¹⁹⁾ die Oberflächenspannungswerte von Paraffinöl und fand im Gegensatz zu v. Isserkutz²⁰⁾, daß die Oberflächenspannung Lösung: Luft bei Änderung der Temperatur der Oberflächenspannung

Lösung: Paraffinöl nicht symbat verläuft. Unger²¹⁾ gelangte zu ähnlichen Ergebnissen. Demnach gewährt die alleinige Messung der Oberflächenspannung Lösung Luft nicht einen vollen Einblick in die zur Wirkung kommenden Oberflächenkräfte, wie dies bei Untersuchungen mit dem Stalagmometer nach Traube vorausgesetzt wird. Heubner²²⁾ weist auf die Schwierigkeiten hin, die sich in der Terpenreihe einer rein physikalischen Erklärung der biologischen Wirksamkeit entgegenstellen und wendet sich unter anderem dagegen, daß Traube die Alkaloide zu den chemisch weniger reaktionsfähigen Stoffen rechnet und chemische Änderungen für die Erklärung ihrer Wirkungen vernachlässigt. Heubner warnt daher vor zu weitgehender Verallgemeinerung und dem Bestreben, alle pharmakologischen Wirkungen der Stoffe nur aus ihren stalagmometrisch gemessenen physikalischen Eigenschaften abzuleiten. Vor kurzem besprach Kisch²³⁾ die Anwendungsmöglichkeiten der stalagmometrischen Methode insbesondere für klinische Zwecke. Er kommt zu dem Schlusse, daß Abweichungen der Oberflächenspannung physiologischer Flüssigkeiten (Serum, Liquor cerebrospinalis, Lymphe) von der Norm als empfindlicher Nachweis irgend welcher Veränderungen zu werten sind. In welcher Richtung sich diese Änderung aber bewegt, läßt sich aus der Oberflächenspannungsverschiedenheit nicht erkennen. Zeigt sich beispielsweise die Oberflächenspannung des Serums erniedrigt, so kann dies seine Ursache in einem geänderten physikochemischen Zustand und Dispersitätsgrad der Serumkolloide oder im Auftreten eines oberflächenaktiven Stoffes haben. Kisch empfiehlt daher in geeigneten Fällen die Messung der Oberflächenspannung als Indikator für den Eintritt irgendwelcher Veränderungen, hält aber diese Methode allein zur Erforschung biologischer Fragen nicht für ausreichend.

Der Umstand, daß die Oberflächenspannungskurven verschiedener Körper Schnittpunkte aufweisen können und die Reihen, die man nach der Oberflächenaktivität aufstellt, verschieden ausfallen, je nach der Konzentration, bei der die Bestimmung vorgenommen wurde, scheint bisher nur wenig berücksichtigt worden zu sein. Berczeller und Seiner²⁴⁾ war zwar ein Einfluß der Konzentration auf die Oberflächenaktivitätsreihen aufgefallen, sie benützten diese Beobachtung aber nur zur Erklärung der in ihren Versuchen aufgetretenen Ausnahmen. „Dannach ist es sehr leicht möglich, daß die in unseren Versuchen beobachteten Ausnahmen einfach darauf zurückgeführt werden müssen, daß die Alkaloide in den Organismen in anderen Konzentrationsverhältnissen wirksam sind.“ Was Berczeller und Seiner aber für die Ausnahmen anerkennen, kann ebensogut auch in jenen Fällen Geltung besitzen, die sie zur Stütze der Haftdrucktheorie anführen. Auch in den von Berczeller als positiv gewerteten Fällen ist es möglich, daß die Stoffe in den Organismen in anderen Konzentrationen zur Wirksamkeit ge-

langen als die Konzentration im Stalagmometer war. Denn es wurden bisher im allgemeinen die stalagmometrischen Messungen bei viel höher konzentrierten Lösungen vorgenommen, als sie in den biologischen Versuchen zum Vergleich gelangten.

Zusammenfassung.

1. Der hämolytische und der Fischindex der untersuchten Saponine zeigen keinerlei Zusammenhänge mit der stalagmometrisch gemessenen Oberflächenaktivität.

2. In der Reihenfolge der oberflächenspannungserniedrigenden Wirkungen kommen die einzelnen Saponine an verschiedene Stellen, je nach der Konzentration, bei der die Bestimmung vorgenommen wird.

3. Trägt man die Oberflächenspannungen als Ordinaten, die Konzentrationen als Abszissen auf, so weisen die Kurven verschiedener Saponine Schnittpunkte auf.

4. Die Toxizität folgt diesen Kurven nicht, sie ist unabhängig von der Konzentration und zeigt beim Vergleich zweier Saponine vor und nach dem Schnittpunkt nicht die nach der Haftdrucktheorie zu erwartende Umkehr.

5. Beim Studium der Beziehungen zwischen Oberflächenaktivität und physiologischer Wirkung ist es anzustreben, die Oberflächenspannungserniedrigung bei der Konzentration des biologischen Versuches zu messen.

Literatur.

- ¹⁾ Meyer und Gottlieb, Experimentelle Pharmakologie. 4. Aufl., S. 116. — ²⁾ Overton, E., Studien über Narkose. usw. Jena 1901. — ³⁾ Verworn, Narkose Jena 1912. — ⁴⁾ Traube, J., Biochem. Zeitschr. **98**, 177. 1919 und zahlreiche frühere Arbeiten. — ⁵⁾ Mansfeld, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **129**, 69. 1919; **131**, 457. 1910; **143**, 175. 1911. — ⁶⁾ Bürker, Münch. med. Wochenschr. Nr. 27, 1910. — ⁷⁾ Meyer, K. H. und H. G. Billroth, Theorie der Narkose durch Inhalationsanästhetica. Hoppe-Seylers Zeitschr. f. physiol. Chem. **112**, H. 2/4, S. 55—79. 1921. — ⁸⁾ Zwaardemaker, H., Ref. Chem. Zentralbl. **3**, 123, 241 u. 559. 1921. — ⁹⁾ Loeb, J., Ref. Ber. ü. d. ges. Physiol. u. exp. Pharmakol. **6**, 4. 1921. — ¹⁰⁾ Clark, A. J., Ref. Chem. Zentralbl. **3**, 558. 1921. — ¹¹⁾ Berczeller, L., Intern. Zeitschr. f. physiol. chem. Biol. **1**, 124. 1914. — ¹²⁾ Knafl - Lenz, E. v., Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **171**, 51. 1918. — ¹³⁾ Schreuder, Biochem. Zeitschr. **88**, 363. 1918. — ¹⁴⁾ Kobert, E., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904. — ¹⁵⁾ Woodward, H. E. und C. L. Alsberg, Ref. Chem. Zentralbl. **1**, 58. 1921. — ¹⁶⁾ Kobert, R., Ber. d. deutsch. Pharmazeut. Ges., Berlin **25**, 162. 1915. — ¹⁷⁾ Freundlich, H., Capillarchemie. Leipzig 1920 und Handwörterbuch d. Naturwissensch. **6**, 783. — ¹⁸⁾ Berczeller, L., Biochem. Zeitschr. **66**, 173—230. 1914 u. **82**, 1. 1917. — ¹⁹⁾ Knafl - Lenz, v., Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **84**, 66. 1918 u. Biochem. Zeitschr. **105**, 88. 1920. — ²⁰⁾ Issekutz, v., Biochem. Zeitschr. **88**, 213. 1918. — ²¹⁾ Unger, R., Biochem. Zeitschr. **89**, 238. 1918. — ²²⁾ Heubner, W., Biochem. Zeitschr. **101**, 54. 1920. — ²³⁾ Kisch, B., Münch. med. Wochenschr. **68**, 1133. 1921. — ²⁴⁾ Berczeller, L. und M. Seiner, Biochem. Zeitschr. **84**, 80. 1917.

Über den Einfluß der arsenigen Säure auf das Bakterienwachstum.

(Nebst Bemerkungen über Randwulstbildungen durch sogenannte oligodynamische Metallwirkung.)

Von

R. Cobet und V. van der Reis.

(Aus der Medizinischen Klinik und dem Hygiene-Institut der Universität Greifswald.)

(Eingegangen am 23. November 1921.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Die Frage, ob arsenige Säure in kleinsten Dosen auf junge, in der Entwicklung befindliche Zellen ganz allgemein einen wachstumsfördernden Reiz auszuüben vermag, beschäftigt uns bereits seit dem Jahre 1919. Untersuchungen in dieser Richtung, die der eine von uns [Cobet]¹⁾ an Pflanzenkeimlingen und Kaulquappen anstellte, ließen eine solche Wachstumsbegünstigung nicht erkennen. Allerdings haben derartige Versuche immer das Mißliche, daß die benutzten Objekte auch unter gleichen äußeren Bedingungen schon erhebliche individuelle Unterschiede im Wachstum zeigen. Das Bestreben, diese Schwierigkeiten durch eine entsprechende Vermehrung der Zahl der Individuen auszugleichen, findet aber bei Pflanzen und Tieren bald in äußeren Umständen eine Grenze. Bakterien schienen uns demgegenüber wesentlich günstigere Versuchsobjekte darzustellen, weil man bei ihnen nicht Wachstumsunterschiede bei Einzelindividuen zu beurteilen gezwungen ist, sondern ganze Kolonien mit unzähligen einzelnen Keimen in ihrer Entwicklung unter verschiedenen Bedingungen miteinander vergleichen kann.

Die zweite Schwierigkeit, der wir bei Versuchen über Wachstumsbegünstigung durch schwache chemische Reize immer begegnen, liegt in der Dosierung des zu prüfenden Mittels. Man kann natürlich nur eine beschränkte Anzahl von Konzentrationen des betreffenden Stoffes auf ihre Wirksamkeit hin untersuchen und so bleibt bei negativem Ausfall der Versuche immer der Einwand bestehen, daß der Reiz nicht

¹⁾ Diese Zeitschr. 98, 294. 1919.

genügend abgestuft worden sei, und man infolgedessen die günstige Konzentration nicht getroffen habe. Auch zur Überwindung dieser Schwierigkeit schien uns das Arbeiten mit Bakterien und zwar die Züchtung auf gallertigen Nährböden gewisse Möglichkeiten zu bieten. Man kann nämlich den zu untersuchenden Stoff in die Gallerte (etwa in eine Agarplatte) von der Mitte aus hineindiffundieren lassen und so durch geeignete Versuchsanordnung einen allmählich gleichmäßigen Abfall der Giftkonzentration im Agar erzielen. Man hätte auf diese Weise innerhalb ein und derselben Agarplatte gleichsam alle Konzentrationen des zu prüfenden Stoffes hintereinander, und bei Beimpfung mit Bakterien, müßte sich eine etwa bestehende entwicklungsfördernde Wirkung einer bestimmten Giftkonzentration durch eine entsprechende Zone üppigeren Wachstums bemerkbar machen. Voraussetzung wäre dabei allerdings, daß während der Zeit, die die Keime für ihre Entwicklung zu Kolonien benötigen, die Konzentration des Giftes an den einzelnen Stellen des Agars sich nicht nennenswert ändert. Tatsächlich geht nun aber die Diffusion des Giftes in der Gallerte dauernd weiter und seine Konzentration verschiebt sich in jedem einzelnen Punkte fortwährend. Nur dann, wenn die Geschwindigkeit der Diffusion des zu prüfenden Stoffes in der Gallerte gegenüber der Schnelligkeit des Bakterienwachstums erheblich zurücktritt, kann man die Voraussetzungen für die Brauchbarkeit der beschriebenen Versuchsanordnung als einigermaßen gegeben erachten. Eine Entscheidung darüber können nur Versuche bringen.

Nun liegen bereits Erfahrungen nach dieser Richtung hin vor, und zwar sind besonders Versuche von Löhner¹⁾ über Wachstumsbegünstigung durch sogen. oligodynamische Metallwirkung zu nennen. Löhner ließ Agarplatten, und zwar meist Endoagar mit eingegossenen Silbermünzen zunächst 12 Stunden im Kältschranke stehen, beimpfte sie dann mit Bakterien, in der Regel mit *Bacterium coli* und beobachtete, wie das schon früher von anderen Autoren, zuerst wohl von v. Behring²⁾ beschrieben worden war, nach 1tägiger Züchtung bei Zimmertemperatur um die Münze herum einen scharf begrenzten keimfreien Hof, während auf der übrigen Platte die Bakterien gut gewachsen waren. An der Grenze zwischen beiden Bezirken bildete sich nun bei Löhners Versuchen eine mit der Zeit immer deutlicher hervortretende Zone besonders üppigen Bakterienwachstums aus. Die beobachteten Erscheinungen erklärt Löhner als Wirkung gelöster, in den Agar hineindiffundierter Silberverbindungen³⁾. Der an der Grenze der

¹⁾ Wiener klin. Wochenschr. 1919, Nr. 37, S. 911.

²⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 9, 432. 1890.

³⁾ Auch alle neueren Untersucher (Bechhold, Kolloidzeitschr. 25, 158. 1919; Dörr, diese Zeitschr. 106, 110. 1920; 107, 207. 1920; 113, 58. 1921; Acel, diese Zeitschr. 112, 23. 1920; Süpfle, Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 41, S. 1166; Laubenheimer, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 92, 78. 1921; Falta und Richter-Quittner, diese Zeitschr. 115, 39. 1921) sehen in Lösungsvorgängen das Wesen der sogenannten oligodynamischen Metallwirkungen und lehnen, gestützt auf immer neue Versuche, die Anschauungen von Saxl (Wien. klin. Wochenschr. 1917 Nr. 23, S. 714) ab.

Abtötungszone auftretende „Randwulst“ soll durch den wachstumsfördernden Reiz der dort herrschenden Silberkonzentration zustande kommen.

Die Voraussetzung, daß diese Silberkonzentration sich im weiteren Verlaufe nicht mehr wesentlich ändert, ist nach Löhner erfüllt. Jedenfalls konnte Löhner bei eingegossenen Kupfermünzen unter Benutzung der Fuchsinreaktion als Indikator zeigen, daß „die Diffusionsvorgänge nach etwa einem Tage tatsächlich bereits eine derartige Verlangsamung erfahren haben, daß man, praktisch genommen, von ihrer Sistierung sprechen kann.“ Vielleicht spielen dabei Umsetzungen der diffundierenden Metallverbindungen mit Bestandteilen des Nährbodens eine Rolle (vgl. unten).

Wir hätten also nach Löhner in seinem Plattenversuch einen Spezialfall des Arndtschen biologischen Grundgesetzes vor uns, nach dem Stoffe, die in starker Konzentration das Protoplasma töten und in schwacher schädigen, in noch geringerer die Lebenserscheinungen anzuregen vermögen, um schließlich bei stärkster Verdünnung indifferent zu sein.

Allerdings decken sich die Löhnerschen Versuchsergebnisse nicht ganz mit dem, was man nach dem Arndtschen Gesetz erwarten müßte. Wie Löhner ausdrücklich betont, schloß sich die Zone gesteigerten Bakterienwachstums unmittelbar mit scharfer Grenze an den keimfreien Hof an, während man nach dem biologischen Grundgesetze zwischen Keimabtötung und Wachstumsförderung eine Zone von Wachstumshemmung finden müßte. Bei Versuchen mit Kupfermünzen war zwar eine solche Wachstumshemmung nachweisbar, hier fehlte dann aber der Begünstigungswall, es war also nur ein allmählicher Übergang von vollständiger Abtötung zu gleichmäßig gutem Bakterienwachstum zu sehen.

Seiffert¹⁾ hat im hiesigen Hygieneinstitut die Versuche Löhners nachgeprüft und konnte sie — wenigstens für den Spezialfall — der Züchtung von *Bacterium coli* auf Endoagar — bestätigen, während bei gewöhnlichem Agar und bei anderen Bakterien die Ergebnisse negativ oder unsicher waren. Durch eine gewisse Änderung der Versuchsanordnung gelang es Seiffert, auch neben der Wachstumsbegünstigung eine Hemmungszone zu erzielen.

Auch Süpfle²⁾ berichtet, daß er durch Einbringung von einem Silbernitratkrystall in einem kochsalzhaltigen Nährboden bei Bakterienbeimpfung alle Zonen, die man nach dem Arndtschen Gesetz erwarten mußte, hintereinander bekommen habe.

Diese günstigen Versuchsergebnisse ermutigten uns, auch für die uns beschäftigende Frage nach dem Einfluß der arsenigen Säure auf das Bakterienwachstum eine Versuchsanordnung mit Diffusion des Giftes in den Nähragar hinein heranzuziehen. An Stelle der Münzen verwendeten wir Agarscheiben, die aus arsenhaltigen Agarplatten durch Ausstanzen gewonnen worden waren. Diese Scheiben waren kreisrund und hatten 17 mm Durchmesser. Ihr Volumen betrug genau 1 ccm, ihre Höhe demnach ca. 4,4 mm. Die Giftkonzentration des Agars war so gewählt, daß in je 1 ccm, also in jedem Agarscheibchen, 5 mg Acidum arsenicosum enthalten waren und zwar, um Wasserstoffionenwirkung auszuschließen, in neutraler Form als Natriumsalz. Bei einem Teil der

¹⁾ Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 50, S. 1437.

²⁾ Münch. med. Wochenschr. 1920, Nr. 41, S. 1166.

Versuche betrug der Gehalt der Agarzylinder an arseniger Säure nur 2 mg.

Um derartige giftige Agarscheiben wurde nun in Petrischalen gewöhnlicher, aber ebenfalls neutralisierter Nähragar herumgegossen und mit Bakterien beimpft, und zwar wurden teils Schüttelkulturen angelegt, indem bereits vor dem Gießen der Platten die Keime in den flüssigen Agar hineingebracht wurden, teils Oberflächenkulturen, indem die Bakterien erst auf den schon erkalteten Nährboden sofort ausgespatelt wurden. Verschiedene Bakterienarten wurden untersucht, so *Prodigiosus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus albus* und *Bacterium coli*. Die in der angegebenen Weise vorbereiteten und beimpften Platten wurden meist bei Zimmertemperatur, in einigen Fällen auch bei 37° aufgehoben und nach 24 Stunden der Beurteilung unterzogen. Nach dieser Zeit fand sich regelmäßig um die Arsenscheibe herum ein scharf begrenzter keimfreier Hof, der wesentlich größer war, als man ihn bei Anwendung von Silbermünzen gewöhnlich bekommt. Bei den kleinen Petrischalen von 9 cm Durchmesser war fast die ganze Platte keimfrei geblieben. Das läßt befürchten, daß bei so kleinen Schalen wegen Platzmangels nicht alle Zonen der Wachstumsbeeinflussung, die man nach dem Arndtschen Gesetz erwarten müßte, zur Ausbildung kommen könnten. Wir haben daher sehr bald nur noch Drigalskischalen von ca. 18 cm Durchmesser angewandt.

Bei gleicher Versuchsanordnung und gleicher Bakterienart stimmte die Größe der keimfreien Höfe gut überein, bei wechselnden Versuchsbedingungen ergaben sich Unterschiede und zwar ließen sich folgende Gesetzmäßigkeiten feststellen (Zahlenbeispiele gibt Tabelle I).

Tabelle I.

Art der Bakterien	Menge As_2O_3 in der Arsenscheibe mg	Temperatur	Schüttel- kultur cm	Oberflächen- kultur cm
<i>Prodigiosus</i> . . .	2	Zimmertemperatur	5,3	6,4
	—	—	5,2	6,4
	5	Zimmertemperatur	6,1	6,9
<i>Staph. albus</i> . . .	—	—	6,3	7,2
	5	Zimmertemperatur	5,3	6,8
	5	37°	5,3	6,7
<i>Staph. aureus</i> . .	5	Zimmertemperatur	6,0	7,1
	5	37°	6,0	7,0
<i>Coli</i>	5	Zimmertemperatur	5,5	5,4
<i>Coli</i> (and. Versuch)	5	"	5,0	5,0

1. Bei steigendem Arsengehalt der zentralen Agarscheibe nahm, wie zu erwarten war, die Ausdehnung des sterilen Hofes zu.

2. Durch Züchtung bei 37° lassen sich keineswegs, wie man wegen der Begünstigung der Diffusion durch Temperatursteigerung vielleicht

annehmen könnte, größere keimfreie Bezirke erzielen als durch Aufbewahrung der beimpften Platten bei Zimmertemperatur. In unseren Versuchen war überhaupt kein Einfluß der Temperatur zu erkennen, bei Versuchen von Saxl¹⁾ mit Silbermünzen wurden die keimfreien Höfe bei 39° sogar kleiner als bei Zimmertemperatur. Wie schon Löhner²⁾ betont, hängt das damit zusammen, daß die Wachstumsgeschwindigkeit der Bakterien in gleichem Maße oder sogar noch stärker durch die Temperatursteigerung beschleunigt wird, als die Diffusionsgeschwindigkeit des Giftes in der Gallerte. Bewahrt man vor der Beimpfung mit Bakterien die Platten bei verschiedenen Temperaturen auf, so kommt, wie Löhner gezeigt hat, der Einfluß erhöhter Temperatur auf die Diffusion einwandfrei durch Vergrößerung der sterilen Höfe zur Geltung.

3. Bei sonst gleicher Versuchsanordnung zeigten die verschiedenen Bakterienarten deutliche Unterschiede in der Größe der keimfreien Höfe. Die Reihenfolge der einzelnen Bakterienarten war zwar bei verschiedenen Versuchsserien nicht immer die gleiche, im großen und ganzen ließ sich aber feststellen, daß *Staphylococcus aureus* in der Regel die größten, *Bacterium coli* die kleinsten Höfe zeigte. Neben der individuellen Giftempfindlichkeit spielt dabei sicher auch die verschiedene Wachstumsgeschwindigkeit der Bakterien eine ausschlaggebende Rolle. Je schneller die Bakterien sich vermehren, um so eher können sie, bevor die tödliche Giftkonzentration sie erreicht hat, zu sichtbaren Kolonien heranwachsen, um so kleiner werden also bei unserer Versuchsanordnung die sterilen Bezirke werden und umgekehrt. Die Beobachtung, daß bei Staphylokokken die Höfe größer sind als bei *Coli*, deckt sich nun durchaus mit der bekannten Tatsache, daß Staphylokokken wesentlich langsamer wachsen als die *Colistäbchen*.

4. Bei *Prodigiosus*, *Staphylococcus aureus* und *Staphylococcus albus* war bei den Schüttelkulturen der keimfreie Bezirk regelmäßig beträchtlich kleiner als bei den Oberflächenkulturen. Bei *Bacterium coli* war ein derartiger Unterschied nicht festzustellen.

Es fragt sich, wie diese Beobachtungen zu erklären sind. Auch hier wäre zunächst an Unterschiede in der Wachstumsgeschwindigkeit zu denken. Der kleinere Hof bei den Schüttelkulturen würde voraussetzen, daß im Innern des Agars die Bakterien schneller wachsen als an der Oberfläche. Erfahrungsgemäß ist das Gegenteil der Fall. Die zweite Möglichkeit wäre die, daß die Giftwirkung der arsenigen Säure auf die Bakterien an der Oberfläche, also bei Sauerstoffgegenwart, stärker wäre als bei Sauerstoffmangel im Innern der Gallerte. Beweismittel für diese Annahme kennen wir nicht. Die größte Wahrscheinlich-

¹⁾ Wien. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 23, S. 714.

²⁾ a. a. O.

keit besitzt die dritte Erklärungsmöglichkeit. Die kleineren Höfe bei den Schüttelkulturen sind auf das Vorhandensein zahlreicher, wenn auch kleinerer Kolonien in dem Agar als bei Oberflächenaussaaten zurückzuführen. Außerdem können chemische Umsetzungen in Betracht kommen, die die arsenige Säure beim Fortschreiten in der Gallerte erfahren müßte. Daß in der Tat bei Schüttelkulturen derartige chemische Umsetzungen möglich sind, dafür spricht die folgende Beobachtung.

Bei Schüttelkulturen mit *Staphylococcus aureus* beobachteten wir regelmäßig innerhalb der keimfreien Zone mehrere konzentrische weißliche Ringe, die, wie die genauere mikroskopische Untersuchung ergab, auf Niederschlagsbildungen innerhalb der Gallerte zurückzuführen waren. Offenbar handelte es sich um sogenannte Liesegangsche Ringe, wie sie übrigens auch schon Messerschmidt¹⁾ in Schüttelkulturen von *Pyocyanus* im sterilen Ring um ein französisches Kupfergeschloß beobachtet hatte. Auch Dörr²⁾ hat bei Typhusschüttelkulturen um Silbermünzen herum konzentrische Ringe entstehen sehen.

Liesegangsche Ringe bilden sich nun in der Regel dann, wenn zwei Verbindungen, die Fällungsreaktionen miteinander eingehen können, innerhalb einer Gallerte ineinander diffundieren. In unserem Falle wäre die eine derartige Verbindung die arsenige Säure, die zweite muß wohl unter den Bakterienstoffwechselprodukten gesucht werden. Jedenfalls kommen, wie wir uns überzeugen konnten, in unbeimpften Platten solche Ringbildungen nicht zustande und auch bei Oberflächenkulturen haben wir niemals derartige Erscheinungen beobachtet. Wir nehmen also an, daß bei den Schüttelkulturen mit Staphylokokken (und auch wohl mit *Prodigiosus*) Stoffwechselprodukte der Bakterien mit der arsenigen Säure chemische Verbindungen eingehen, wodurch letztere zum Teil entgiftet wird, und daß auf diese Weise eine Verzögerung im Fortschreiten des Giftes in der Gallerte zustande kommt.

Bei Oberflächenkulturen werden natürlich beträchtlich weniger Stoffwechselprodukte gebildet werden, so daß sie praktisch nicht so stark ins Gewicht fallen. Hier kann also die Diffusion der arsenigen Säure ungehindert von statten gehen, die keimfreien Bezirke werden dementsprechend beträchtlich größer werden. Die Tatsache, daß sich in dieser Hinsicht, wie oben erwähnt wurde, das *Bacterium coli* anders verhielt, als die übrigen untersuchten Bakterien, läßt sich mit unseren Auffassungen ohne Schwierigkeit in Einklang bringen, wissen wir doch, daß die Stoffwechselprodukte der Colibakterien auch in anderer Beziehung besondere Eigenschaften zeigen.

Wenn unsere eben entwickelte Anschauung zu Recht besteht, so ergibt sich daraus die praktische Folgerung, daß Schüttelkulturen für

¹⁾ Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 82, 289. 1916.

²⁾ Diese Zeitschr. 107, 207. 1920.

unsere Zwecke überhaupt ungeeignet sind, weil bei ihnen ein ungestörter Ablauf der Diffusion in der Gallerte nicht gewährleistet ist. Wir haben daher im weiteren Verlaufe der Versuche nur noch Oberflächenkulturen angelegt.

Bisher war nur von der Abtötungszone die Rede und von den Faktoren, die für deren Ausdehnung von Bedeutung sind. Die uns besonders beschäftigende Frage, ob sich bei unserer Versuchsanordnung neben der Entwicklungshemmung auch eine Zone der Wachstumsförderung nachweisen ließe, wurde noch nicht erörtert. Alle bisherigen Versuche haben nämlich nach dieser Richtung hin nicht zu dem erwarteten Ergebnis geführt. Ein deutlicher Begünstigungswall war in keinem Falle nachweisbar.

Bei den Staphylokokken und *Bacterium coli* zeigte sich nach 16 bis 24 Stunden gewöhnlich eine scharfe Grenze zwischen dem keimfreien Hofe einerseits und der Zone gleichmäßig guten Bakterienwachstums am Rande der Platte andererseits. Bei längerem Stehenlassen bildeten sich allerdings nach weiteren 1–2 Tagen in der Grenzzone öfters eigenartig große Kolonien aus. Diese standen aber gewöhnlich einzeln und hatten sich zum Teil in den früher keimfreien Bezirk hinein vorgeschoben. Wir trugen daher von vornherein Bedenken, diese Erscheinung auf eine Wachstumsbegünstigung durch arsenige Säure zurückzuführen, eine Auffassung, die durch die weiteren Versuche bestätigt wurde und später noch näher begründet werden wird (vgl. S. 13).

Bei den *Prodigiosus*platten lagen die Verhältnisse etwas anders. Hier war regelmäßig anschließend an den Abtötungsbezirk eine $\frac{1}{2}$ bis 1 cm breite Zone zu beobachten, in der die Bakterien weiß gewachsen waren, während sie weiter außen, wie das bei Zimmertemperatur die Regel ist, ihren dunkelroten Farbstoff gebildet hatten. Ob das Weißwachsen des *Prodigiosus* als Ausdruck einer besonders üppigen Bakterienentwicklung aufzufassen oder auf eine Schädigung derselben zu beziehen sei, war natürlich nicht ohne weiteres zu entscheiden. Daß das letztere der Fall ist, dafür spricht folgender Versuch.

Wenn wir auf unsere in der üblichen Weise hergestellten Platten eine so dünne Aufschwemmung von *Prodigiosus* aufspatelten, daß die Keime einzeln zu liegen kamen, und jeder für sich ohne gegenseitige Beeinflussung zur Kolonie heranwachsen konnte, so fanden sich nach 24 Stunden anschließend an den sterilen Bezirk zunächst ganz kleine weiße Kolonien, daran schlossen sich dann etwas größere rötlich gefärbte an und diese leiteten ganz allmählich zu gleichmäßig üppigen dunkelroten Kolonien über, die in Größe und Farbe vollkommen mit den auf arsenfreien Platten gewachsenen Kontrollen übereinstimmten. Wir sehen also, daß Wachstum und Farbstoffbildung in ihrer Stärke genau parallel gehen. Das Weißwachsen des *Prodigiosus* muß demnach als

Zeichen einer Schädigung der Bakterien angesehen werden (vgl. auch S. 14). Die *Prodigosus*-platten zeigten also ein allmähliches Abklingender schädlichen Arsenwirkung bis zur Indifferenz ohne Zwischenschaltung einer wachstumsfördernden Zone.

Gegen die bisherige Versuchsanordnung könnte geltend gemacht werden, daß die sofortige Beimpfung der Platten ungünstig sei, weil dabei während des Bakterienwachstums die Diffusion noch zu rasch fortschreitet und daher die Zone einer etwa bestehenden wachstumsfördernden Konzentration sich zu rasch verschiebe. Wenn, wie Löhner (siehe oben) annimmt, bereits nach 24 Stunden die Diffusion fast stillsteht, würde für unsere Zwecke eine erst nach entsprechender Zeit erfolgende Beimpfung der Platten vielleicht vorteilhafter sein. Daß das nicht der Fall ist, wird sich aus späteren Erörterungen ergeben und läßt sich auch unmittelbar durch Versuche zeigen. Wenn wir die Platten 12–24 Stunden nach dem Gießen bespatelten, so wurden zwar die keimfreien Höfe entsprechend größer, sonst aber war kein nennenswerter Unterschied gegenüber der sofortigen Beimpfung zu bemerken. Derartige Versuche wurden allerdings nur mit *Prodigosus* angestellt.

Wesentliche Fortschritte machten unsere Untersuchungen, als wir nach dem Vorgange von Friedberger¹⁾ mit Leuchtbakterien zu arbeiten begannen. Friedberger und Büchner konnten zeigen, daß der Randwulst um Silbermünzen herum bei Leuchtbakterien besonders schön zur Darstellung kommt. Bei der Photographie der Platten im eigenen Licht konnten sie diese Erscheinung durch entsprechende Schwärzung der Silberplatten einwandfrei nachweisen. Beim Betrachten im Dunkeln sieht man den keimfreien Hof als schwarzen Fleck in einem leuchtenden Felde, an der Grenze zwischen beiden bemerkt man einen etwa $\frac{1}{2}$ cm breiten, wesentlich stärker leuchtenden Ring. Im späteren Verlaufe bleibt dieser allein noch eine zeitlang bestehen, während nach außen davon die Leuchtkraft der Bakterien erloschen ist. Bei Betrachtung im Hellen findet man an entsprechender Stelle einen Wulst besonders üppiger Bakterienentwicklung, ein Zeichen dafür, daß es sich nicht allein um eine Steigerung der Leuchtfunktion der Bakterien, sondern in der Tat um eine Wachstumsförderung gehandelt hat.

Ein ebenso schöner Begünstigungswall ließ sich nun mit Leuchtbakterien auch um unsere Arsenscheiben herum erzielen. Die Versuchsanordnung war dabei die gleiche wie früher, nur muß der Nähragar etwa 2% Kochsalz enthalten. Die Aufspatelung der Bakterien erfolgt sofort nach dem Gießen der Platten. Nach 24 Stunden war bereits die Abtötungszone zu erkennen, die auch hier wieder größer war als um die Silbermünzen herum. Vom Begünstigungswall war aber zu

¹⁾ Sitzung der Berliner mikrobiol. Gesellschaft vom 14. II. 1921. Berl. klin. Wochenschr. 1921, S. 897.

dieser Zeit noch nichts zu bemerken, derselbe entwickelte sich vielmehr erst im Laufe des nächsten Tages, trat dann allerdings regelmäßig in völlig einwandfreier Weise auf. Stets schloß sich die Zone stärkeren Leuchtens unmittelbar mit scharfer Grenze an den dunklen keimfreien Bezirk an. Niemals war zwischen beiden eine Zone der Entwicklungshemmung nachweisbar. Auch bei Licht waren nach innen vom Begünstigungswall keine kleineren Kolonien zu bemerken. Friedberger und Büchner gelang es allerdings durch Kulturversuche, noch lebensfähige Keime nachzuweisen.

Durch die Leuchtbakterienkulturen ist somit einwandfrei festgestellt, daß um unsere Arsenscheiben herum auch eine Zone der Wachstumsförderung in Gestalt eines Randwulstes auftreten kann in Übereinstimmung mit Friedberger und Büchner. Es fragt sich nur, ob dieser in der Tat auf eine Reizwirkung einer bestimmten Giftkonzentration bezogen werden muß. Gegen diese Annahme spricht von vornherein sehr die Tatsache, daß der Begünstigungswall sich erst so spät entwickelt und dann trotzdem unmittelbar an die Abtötungszone angrenzt, die sich ihrerseits unterdessen nicht weiter vergrößert hat.

Um die Verhältnisse richtig beurteilen zu können, müssen wir uns zunächst ein Bild vom Ablauf der Diffusionsvorgänge in unseren Arsenplatten zu machen versuchen. Von einem zentralen Depot aus diffundiert die arsenige Säure nach allen Richtungen in den Agar hinein und zwar dauert der Vorgang so lange, bis die gesamte vorhandene Arsenmenge sich gleichmäßig auf den Agar verteilt hat, bis also überall die gleiche Giftkonzentration herrscht. In den peripheren Teilen der Platte wird demgemäß die Konzentration der arsenigen Säure ganz allmählich bis auf den endgültigen Durchschnittswert ansteigen, in den inneren an die Arsenscheiben angrenzenden Bezirken liegen die Verhältnisse aber etwas anders. Hier wird auch zunächst die Konzentration wachsen, und zwar bis zu einem Werte, der höher liegt als der schließliche Durchschnitt, dann aber wird sie wieder bis zu diesem absinken, weil ja das zentrale Depot sich zunehmend erschöpft. Der Gipfelpunkt der Arsenkonzentration, der von den einzelnen Stellen der Platte erreicht werden kann, ist verschieden, er ist abhängig von der Entfernung des betreffenden Punktes von der Arsenscheibe in der Mitte, er nimmt also nach außen hin ab und zwar ziemlich rasch.

Über die Geschwindigkeit, mit der die geschilderten Diffusionsvorgänge in unseren Arsenplatten ablaufen, haben wir uns durch folgende Versuche ein Urteil verschafft. Die in der üblichen Weise hergestellten Platten wurden nicht sofort in ganzer Ausdehnung beimpft, sondern die einzelnen Quadranten in Abständen von 12—24 Stunden nacheinander mit Bakterien (und zwar mit *Prodigiosus*) bespatet. Das Ergebnis zeigt Tabelle II. Wir sehen, daß die Diffusion nicht wie bei

Tabelle II.
Arsenplatten mit Prodigiosus.
Breite der Abtötungszone.

Durchmesser der Platte	Zeitpunkt der Bepastelung					Bemerkungen
	sofort	nach 12 Std.	nach 24 Std.	nach 36 Std.	nach 48 Std.	
cm	cm	cm	cm	cm		
18,5	2,5	3,0	3,3	—	weißes Wachstum bis zur Arsenscheibe, bis 2 cm Entfernung einzelne Kolonien.	gleichzeitig bei warmem Wetter
18,5	2,8	3,0	3,6	—	weißes Wachstum bis zur Arsenscheibe, bis 2 cm Entfernung einzelne Kolonien.	
17,8	2,5	3,0	3,4	—	4,4 cm	kühl. Wetter
18,5	—	—	3,0	3,8	4,3 cm	

Löhners¹⁾ Versuchsanordnung bereits nach 24 Stunden fast zum Stillstand gekommen, sondern auch am 2. Tage noch deutlich fortgeschritten ist. In zwei Versuchen waren die nach 24 Stunden aufgespatelten Keime sogar bis fast zur Mitte herangewachsen und zwar im ganzen Quadranten weiß ohne Farbstoffbildung. Ein keimfreier Hof war nicht mehr entstanden. Das bedeutet, daß hier die Diffusion fast bis zum Ende fortgeschritten war, so daß auch in den zentralen Teilen der Platte die Arsenkonzentration wieder bis unter den für Prodigiosus tödlichen Grenzwert abgesunken war. Gerade diese letztere Feststellung erscheint uns sehr wichtig und liefert uns den Schlüssel für das Verständnis der Randwulstbildungen. Diese lassen sich nämlich einfach durch eine Wachstumsbegünstigung infolge reichlicheren Nährstoffangebotes erklären. Im Laufe des ersten Versuchstages herrscht in einer bestimmten zentralen Zone eine für die betreffenden Bakterien tödliche Giftkonzentration, es kommt zum keimfreien Hof. Im Laufe des 2. Tages aber sinkt in diesem Bezirk die Konzentration unter den giftigen Schwellenwert und alle noch nicht abgestorbenen Bakterien unterliegen etwa der gleichen nunmehr unschädlichen Arsenwirkung. Von diesem Augenblick an aber sind die an die sterile Zone angrenzenden Keime gegenüber den anderen in bezug auf den verfügbaren Nährstoff im Vorteil, weil sie nach einer Seite hin keine Konkurrenz mehr haben. Die oben betonte Tatsache, daß der Begünstigungswall erst so spät entwickelt, und sich trotzdem immer unmittelbar an den sterilen Hof anschließt, erscheint uns bei dieser Art der Entstehung selbstverständlich.

Es galt, weitere Beweismittel für unsere Anschauung beizubringen.

Zunächst mußte gezeigt werden, daß in der Tat eine einfache Nährstoffbegünstigung einen ebensolchen Randwulst zu erzeugen vermag.

¹⁾ a. a. O.

wie wir ihn bei unseren Arsenplatten beobachtet hatten. Zu diesem Zwecke wurde eine einfache, — nicht mit Arsenscheibe versehene — Salzagarplatte mit Leuchtbakterien bespatelt. Nach 24 Stunden überzeugten wir uns davon, daß die ganze Platte gleichmäßig leuchtete, schnitten dann in der Mitte eine runde Scheibe von 6 cm Durchmesser heraus und füllten wieder mit sterilem Salzagar auf. Nach weiteren 24 Stunden hatte sich nun um den dunklen Bezirk in der Mitte herum ein einwandfreier Begünstigungswall gebildet, der in seiner Breite vollkommen dem bei den Arsenplatten beobachteten entsprach, in seiner Leuchtkraft diesen eher noch übertraf.

Weiter mußte bewiesen werden, daß auch für Leuchtbakterien im sterilen Hof der Arsenplatten die Giftkonzentration zur Zeit der Randwulstbildung unter den tödlichen Schwellenwert abgesunken ist. Um das zu prüfen, haben wir nach 30—36 Stunden, als der keimfreie Bezirk bereits deutlich, von einer Wachstumsbegünstigung aber noch nichts zu bemerken war, erneut Leuchtbakterien in den sterilen Hof hinein verimpft, und zwar wurden mit Querstrich zum Teil frische Kulturen, zum Teil Bakterien vom Rande der Arsenplatte übertragen. Im Laufe des nächsten Tages bildete sich nun, wie üblich, der Begünstigungswall, zugleich waren aber auch im Bereich der ursprünglich sterilen Zone die verimpften Bakterien angegangen. In einem Teil der Versuche sah man im dunklen Feld die Querstriche sehr schön leuchten, in anderen Versuchen war allerdings die Leuchtkraft nur gering oder fehlte ganz, die Betrachtung im Hellen zeigte aber, daß auch in diesen Fällen die Bakterien zweifellos gewachsen waren. Auch gelang es, die betreffenden Keime durch einmaliges Überimpfen auf frischen Agar wieder zum Leuchten zu bringen. Daraus ergibt sich, daß nach 30 Stunden im mittleren Felde keine Abtötung mehr, sondern höchstens noch eine gewisse Bakterienbeschädigung stattgefunden hat, wie wir sie in ähnlicher Weise bei *Prodigiosus* nach 48 Stunden beobachtet hatten. Im weiteren Verlaufe muß auch diese Schädigung verschwinden, denn im Endstadium der Diffusion ist die in der ganzen Platte herrschende Arsenkonzentration für Leuchtbakterien ganz ungiftig, wie folgender Versuch lehrt.

In 100 ccm flüssigen Salzagar — für die Herstellung einer großen Platte waren sonst sogar 120—130 ccm notwendig — wurde eine Arsenscheibe aufgelöst und für gute Mischung gesorgt. Daraus wurde eine Platte gegossen und diese mit Leuchtbakterien beimpft. Es ergab sich ein völlig normales Wachstum mit guter Leuchtkraft. Bei einem anderen Versuche, bei dem eine Arsenscheibe auf nur 50 ccm Agar kam, trat erst nach 4 Tagen ein schwaches Leuchten auf.

Die weiteren Versuche wurden nun so angelegt, daß eine Arsenwirkung zwar möglich, eine Nährstoffbegünstigung aber ausgeschlossen

war. Entsprechend unseren Anschauungen mußte in diesen Fällen dann der Begünstigungswall ausbleiben. Unseren Zweck suchten wir zunächst dadurch zu erreichen, daß wir die in der üblichen Weise hergestellten Arsenplatten mit ganz dünnen Bakterienaufschwemmungen beimpften. Auf diese Weise kamen die Keime einzeln zu liegen und konnten sich unabhängig voneinander zu Kolonien entwickeln, die Arsendiffusion in den Agar aber konnte wie sonst von statten gehen. Im Gegensatz zu den Versuchen mit dichter Beimpfung war bei diesen Platten nach 48 Stunden noch keine Spur von Randwulst zu erkennen. Im Laufe des 3. Tages trat dann allerdings ein schwacher Begünstigungswall auf, inzwischen hatten sich aber die einzelnen Kolonien soweit ausgedehnt, daß sie sich gegenseitig beeinflussen konnten. Die für den Versuch geforderten Voraussetzungen konnten somit in diesem Zeitpunkt nicht mehr als erfüllt gelten.

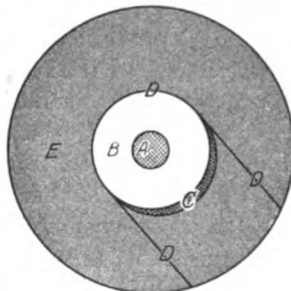


Abb. 1.

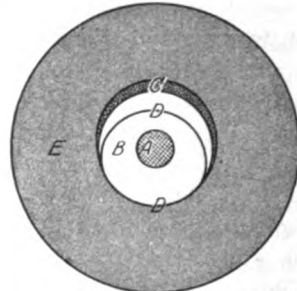


Abb. 2.

A Arsenscheibchen. B steriler Hof. C Begünstigungswall. D Schnittführung. E Gleichmäßig leuchtender Bakterienrasen.

Noch eine andere Möglichkeit gibt es, um die Nährstoffbegünstigung auszuschalten. Man kann bei den in der gewöhnlichen Weise hergestellten und dicht beimpften Platten nach 24 Stunden, wenn die Grenze des sterilen Hofes bereits deutlich zu erkennen, der Randwulst aber noch nicht vorhanden ist, Schnitte in die Platte hineinlegen, die genau an der Grenze zwischen sterilem Bezirk und Bakteriumwachstum verlaufen. Wenn man etwa durch eingesteckte Hölzchen diese Schnitte zum Klaffen bringt, so wird dadurch der unbewachsene Agar mit seinem Nährstoffüberfluß von den wachsenden Bakterien getrennt. Wir haben verschiedene Modifikationen der Schnittführung angewandt, wobei wir zugleich die verschiedenen Möglichkeiten der Arsendiffusion berücksichtigen. Die Abb. 1 und 2 geben Beispiele dafür. Das Ergebnis dieser Versuche war immer so, wie wir es erwartet hatten. Überall da, wo der Nährstoffüberschuß abgeschnitten war, blieb der Begünstigungswall aus.

Es ist nicht gerade wahrscheinlich, daß das Ausbleiben des Randwulstes jenseits der Schnittlinie durch die gleichzeitige Weiterverhin-

derung der Arsendiffusion bedingt ist. Denn wir müssen annehmen, daß nach 24 Stunden, kurz vor dem spontanen Auftreten der Begünstigung, dort schon eine derartige Arsenkonzentration erreicht ist, daß wenigstens eine gewisse Verstärkung des Leuchtvermögens hervortritt.

Daraus ergibt sich, daß die Bildung des Randwulstes bei unseren Arsenplatten nicht ohne weiteres durch den Reiz einer bestimmten Giftkonzentration, sondern auch durch Nährstoffbegünstigung erklärt werden kann.

In derselben Weise müssen unseres Erachtens auch die Randwulste erklärt werden, die nach Löhner¹⁾ und anderen durch die sogenannte oligodynamische Metallwirkung zustande kommen. Jedenfalls zeigen die Begünstigungswälle in diesen Versuchen durchaus die gleichen Eigenschaften wie bei unseren Arsenplatten. Löhner macht selbst darauf aufmerksam, daß sich „die Grenzlinie vollkommen scharf und unvermittelt vom keimfreien Felde“ abhob, und daß die Förderung der Bakterienvermehrung in der Randzone „mit der Zeit immer deutlicher“ hervortrat.

Bei der sogenannten Oligodynamie handelt es sich nun, wie schon oben auseinandergesetzt wurde, um die Wirkung gelöster Metallverbindungen. Die Münzen stellen keineswegs ein unerschöpfbares Depot dar, sondern ihr schädlicher Einfluß geht, wie Dörr²⁾ durch Versuche belegen konnte, durch Abdiffundieren des Giftes verloren. Infolgedessen wird auch hier im Laufe des Versuches in der Anfangs keimfreien Zone die Giftkonzentration unter den für die betreffenden Bakterien schädlichen Schwellenwert absinken. Daß das so ist, geht bereits aus einem Versuch von Löhner³⁾ selbst hervor, dem nach mehreren Tagen durch Verstreichen der Bakterien die Besiedelung eines Großteils des keimfreien Feldes gelang. Etwas ähnliches hatte früher schon v. Behring⁴⁾ beobachtet. Löhner sucht dieses Verhalten mit einem Giftfestwerden der Bakterien zu erklären.

Auch wir selbst haben Versuche mit Silbermünzen unter Benutzung von Leuchtbakterien angestellt. 30 Stunden nach der Beimpfung zeigten die betreffenden Platten noch keinen Begünstigungswall. Wurden jetzt auf den keimfreien Hof erneut durch Querstrich Bakterien aufgebracht, so wuchsen diese in der Regel und zeigten meist gute Leuchtkraft. Währenddessen entstand dann auch ein ausgesprochener Randwulst. Die Verhältnisse liegen somit hier noch klarer als bei den Arsenplatten.

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

³⁾ a. a. O.

⁴⁾ a. a. O.

Die Beobachtung Löhners¹⁾, daß bei Kupfermünzen kein Begünstigungswall entsteht, sondern daß sich hier eine Zone der Wachstums hemmung an den keimfreien Bezirk anschließt, erklärt sich unseres Erachtens aus der stärkeren Giftigkeit des Kupfers. Bei kleinen Petrischalen, wie sie Löhner benutzte, kann infolgedessen die Konzentration der Kupfersalze im sterilen Hofe nicht durch Wegdiffundieren unter den schädlichen Wert absinken. Seiffert²⁾ sah, wie oben schon erwähnt, bei Versuchen mit *Bacterium coli* auf Endoagar um Silbermünzen herum sämtliche Zonen, die man nach dem biologischen Grundgesetz erwarten mußte, nebeneinander, ein Befund, der zunächst sehr für die Wirkung verschiedener Metallsalzkonzentrationen sprach. Wiederholung dieser Versuche brachte uns eine Bestätigung. Einwärts vom Begünstigungswall waren einzelne kleine Kolonien zu erkennen, bei weiterem Zuwarten aber wuchsen diese zu besonders üppigen Haufen heran und schoben sich im keimfreien Felde immer weiter nach der Münze hin vor. Wir halten folgende Erklärung für wahrscheinlich: Im anscheinend sterilen Hofe sind einige Keime noch lebensfähig geblieben und verspätet zur Entwicklung gelangt. In einem bestimmten Zeitpunkt sind die daraus entstandenen Kolonien eben sichtbar, bedeuten aber für ihre Nachbarschaft noch keine wirksame Konkurrenz, so daß sich nach außen davon trotzdem der Randwulst durch Nährstoffbegünstigung bilden kann. Im weiteren Verlauf haben die einzelstehenden Kolonien selbst dann besonders günstige Entwicklungsbedingungen und können so zu auffällender Größe heranwachsen. In ähnlicher Weise denken wir uns die Entstehung der einzelnen großen Kolonien, die wir bei Staphylokokkenkulturen auf unseren Arsenplatten auf der äußeren Grenze der keimfreien Höfe beobachtet haben (vgl. S. 6).

Da nun, wie gezeigt wurde, die Randwülste bei unseren Arsenplatten auf Nährstoffbegünstigung zurückzuführen sind, so haben alle bisherigen Versuche bezüglich der Frage, ob die arsenige Säure in schwächster Konzentration einen Wachstumsreiz auszuüben vermag, zu einem durchaus negativem Ergebnis geführt. Der Beweis, daß eine solche Arsenwirkung nicht besteht, ist allerdings ebensowenig erbracht; denn die Voraussetzungen, unter denen die bisherigen Versuche angestellt wurden, daß nämlich die Geschwindigkeit der Diffusion gegenüber der Wachstumsgeschwindigkeit der Bakterien vernachlässigt werden könnte, haben sich ja als irrig erwiesen. Tatsächlich schreitet die Diffusion des Giftes schnell fort. Es wäre daher möglich, daß eine etwa bestehende wachstumsfördernde Wirkung einer bestimmten Arsenkonzentration nicht zur Geltung kommen könnte, weil diese Konzentration an ein und derselben Stelle nur kurze Zeit herrscht und zu schnell von einer stärkeren, vielleicht schädlichen, abgelöst werden könnte.

Es war also unsere Aufgabe, in einem bestimmten Zeitpunkt ein weiteres Fortschreiten der Diffusion zu verhindern. Wir suchten das durch Schnitte, die wir in kleinen Abständen 12 Stunden nach dem Gießen in den Agar hineinlegten, zu erreichen. Dabei sind wir aus technischen Gründen dazu übergegangen, an Stelle der Platten Agar-

¹⁾ a. a. O.

²⁾ a. a. O.

streifen zu verwenden, die in aus Wachspapier hergestellten Formen gegossen wurden. An eine Arsenagarscheibe von 4 cm Länge, 2 cm Breite und $\frac{1}{4}$ cm Höhe, die 10 mg *Acidum arsenicosum* in neutralisierter Form enthielt, wurde an der Längsseite ein Agarstreifen von 4 cm Breite und 23 cm Länge angegossen. Nach 12 Stunden wurde dieser zunächst mit einer ganz dünnen Bakterienaufschwemmung bespatelt und unmittelbar darauf durch Querschnitte, die in Abständen von 1 cm angelegt wurden, in einzelne Stückchen zerteilt, die dann durch leichtes Auseinanderschieben getrennt wurden. Auf diese Weise wird ein Fortschreiten der Diffusion im Ganzen verhindert, innerhalb eines und desselben Scheibchens aber gleicht sich natürlich die Arsenkonzentration aus. Wir haben daher nicht mehr ein gleichmäßiges, sondern ein treppenförmiges Absinken der Giftkonzentration. Nach dieser Richtung hin bedeutet somit die neue Versuchsanordnung einen Rückschritt. Eine gewisse Variationsmöglichkeit ist nur dadurch gegeben, daß man bei den einzelnen Streifen einer Versuchsreihe den ersten Querschnitt in verschiedenen Entfernungen vom Arsenherd anlegen kann, (z. B. in $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{4}$ und 1 cm Abstand), so daß die Konzentrationsstufen in jedem Streifen anders liegen.

Die Versuche erstreckten sich nur auf *Prodigiosus*. Eine Wachstumsförderung durch die arsenige Säure konnte auch bei dieser Versuchsanordnung nicht beobachtet werden. Regelmäßig fanden wir eine Abtötungszone von durchschnittlich 3 cm Breite und anschließend eine 1 cm breite Schädigungszone, in der die Bakterien weiß gewachsen waren.

Schließlich haben wir noch an verschiedenen Stellen des Arsenstreifens die Generationsdauer der Bakterien bestimmt, in der Hoffnung, auf diese Weise vielleicht eine etwa bestehende Wachstumsförderung aufdecken zu können. Unter Generationsdauer verstehen wir die Zeit, welche zur Teilung einer Zelle erforderlich ist. Diese ist für ein und dieselbe Keimart unter sonst gleichen Verhältnissen ziemlich konstant. Eine Wachstumsbegünstigung aber wird sich durch Verkürzung, eine Schädigung durch Verlängerung der Generationsdauer bemerkbar machen müssen.

Wir bestimmten nun die Generationsdauer von 4 Kolonien aus der weißen Zone, von 4 weiteren aus dem anschließenden rotgewachsenen Teile des Streifens und von 4 Kolonien, die auf gewöhnlichem Agar gewachsen waren. Die Kolonien wurden in je 5 ccm Bouillon eingepflegt, davon wurde sofort je 1 Öse in 10 ccm Agar gegeben, und zur Platte gegossen, eine zweite ebensolche Plattenreihe wurde nach 6 Stunden angelegt. Nach 3 Tagen wurde die Zählung der Kolonien mit dem Wolffhügelschen Apparat vorgenommen und darauf mit der üblichen Formel die Generationsdauer berechnet. Diese betrug bei der Kon-

trolle 150 Minuten, im rotgewachsenen Teil des Streifens 156 Minuten, Werte, die innerhalb der Fehlergrenzen der Methode gleich sind. Eine Wachstumsbegünstigung durch arsenige Säure war also nicht zu erkennen. Bei den weißen Kolonien aber betrug die Generationsdauer 225 Minuten. Es ließ sich also auch auf diese Weise zeigen, daß das Weißwachsen gleichbedeutend mit einer Schädigung der Kolonien ist.

Zusammenfassung.

Läßt man arsenige Säure aus einem zentralen Depot in eine Agar-scheibe hineindiffundieren, so entsteht ein keimfreier Bezirk und daran anschließend unter bestimmten Bedingungen ein Randwulst besonders üppigen Bakterienwachstums. Dieser ist aber nicht auf den Reiz einer bestimmten Giftkonzentration zu beziehen, sondern kommt durch Nährstoffbegünstigung zustande.

Dasselbe gilt von den Randwülsten, die um Silbermünzen herum als Folge sogenannter oligodynamischer Metallwirkung beobachtet werden.

Eine Förderung des Bakterienwachstums durch arsenige Säure ließ sich bei den verschiedenen angewandten Versuchsanordnungen nicht feststellen.

Über das Hämochrom von Herzfeld und Klinger.

Von

S. Partos (derzeit in Prag).

(Aus dem physiologisch-chemischen Institut der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 26. November 1921.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Herzfeld und Klinger kehren sich¹⁾ gegen die bisherige Lehre, wonach das Hämoglobin ein Proteid im Sinne einer festen Verbindung zwischen Globin und Hämatin wäre, wobei eine feste Verankerung der Hämatingkomponente mit einem Teile der das Globin bildenden Aminosäuren bestehen müßte. Ihrer Annahme nach handelt es sich bloß um eine adsorptive, auf Nebenvalenzen beruhende Bindung zwischen Eiweiß und einem von den Autoren nach einem eigenen Verfahren dargestellten Farbstoffe, welche Bindung so locker ist, daß die beiden Komponenten bereits durch geeignete Lösungsmittel voneinander getrennt werden können. Und zwar soll es sich um einen von allen bisher bekannten Hämoglobinderivaten abweichenden Farbstoff handeln, der dem Blutfarbstoff und seinen Derivaten als Muttersubstanz zugrunde liegt, und von Herzfeld und Klinger „Hämochrom“ genannt wird. Sie schlagen²⁾ vor, „... die zahlreichen bisherigen Namen wie Hämatin, Hämin, Hämochromogen usw. vollständig fallenzulassen, da dieselben den irrigen Anschein erwecken, als ob es sich um neue besondere Körper handelte; es scheint zweckmäßiger, nur von Hämochrommolekülverbindungen zu sprechen...“. Hingegen wollen die Autoren der von ihnen supponierten Adsorptionsbindung zwischen Globin und Hämochrom auch weiterhin den Namen Hämoglobin belassen, desgleichen auch die Ausdrücke O-, CO-, NO-Hämoglobin im bisherigen Sinne weiterverwenden.

Ohne auf die gesagte Adsorptionsbindung, die mir durch nichts erwiesen erscheint, einzugehen, will ich an dieser Stelle nur über meine

¹⁾ E. Herzfeld und R. Klinger, diese Zeitschr. **100**, 64. 1919.

²⁾ l. c. S. 74.

Erfahrungen über das von Herzfeld und Klinger dargestellte Hämo-
chrom berichten und hier gleich das Ergebnis meiner Untersuchungen
vorzunehmen: einen Körper (das von Herzfeld und Klinger
dargestellte Hämochrom), der die Muttersubstanz von Hämatin,
Hämin usw. wäre, gibt es nicht; das, was die Autoren in Hän-
den gehabt haben, ist nichts weiter als Hämatin gewesen.

A. Übereinstimmende Eigenschaften von Hämatin und Hämochrom.

Die Identität von Hämatin und Hämochrom geht bereits aus einigen,
ohne weiteres nachweisbaren Eigenschaften des Hämochroms hervor,
die großenteils von Herzfeld und Klinger selbst angeführt werden.

1. Die Umwandlung der verschiedenen Blutfarbstoffe in Hämochrom
soll durch Erwärmen mit Alkohol in Gegenwart von (CaCl_2 oder Harn-
stoff oder) NaHCO_3 bewirkt werden. Nun wissen wir aber, daß Blut-
farbstoff nicht nur unter Einwirkung von Säuren, Laugen, sondern
auch von Hydrochinolinen (Kairin, Thallin) in Hämatin verwandelt
wird, und ist es nur ganz begreiflich, übrigens auch längst bekannt,
daß Blutfarbstoff auch durch Carbonate in Hämatin verwandelt wird¹⁾.

2. Reinstes Hämochrom ist in absolutem Alkohol unlöslich; das-
selbe ist auch bezüglich des Hämatins der Fall. In Anwesenheit von
kohlen saurem Alkali löst sich das Hämochrom; aber genau so auch
Hämatin: „... es löst sich ... in allen Alkalilösungen, ... selbst in
Alkohol beim Zusammenschütteln mit kohlen saurem Alkali“²⁾.

3. Hämochrom ist in Pyridin löslich; ebenso auch Hämatin.

4. Im Spektrum einer bicarbonatalkoholischen Lösung von Hämo-
chrom ist nach Herzfeld und Klinger ein Absorptionsstreifen zwi-
schen 620 und 580 $\mu\mu$ zu sehen. Dasselbe ist (siehe Abb. auf S. 96)
an ähnlich bereiteten Lösungen von Hämatin der Fall. Wenn Herzfeld
und Klinger sagen³⁾, daß das Spektrum des Hämochroms dem des
reduzierten Hämoglobins ähnlich sei (an einer anderen Stelle⁴⁾ aller-
dings sagen, daß der Streifen gegen den des reduzierten Hämoglobins
verschoben sei), ist dies durchaus nicht zu begreifen. Denn der Streifen
des reduzierten Hämoglobins ist zwischen 596 und 543 $\mu\mu$ gelegen!
Wenn also von einer Ähnlichkeit die Rede ist, so kann sie nur zwischen
dem Hämochrom- und Hämatin- (nicht aber dem reduzierten Hämog-
lobin-) Spektrum bestehen; allerdings eine Ähnlichkeit, die richtig als
Identität zu bezeichnen ist.

¹⁾ C. Neuberg, Der Harn I. 925.

²⁾ Hoppe-Seyler-Thierfelder, Handb. der chem. Analyse, VIII. Aufl.,
1909, S. 355.

³⁾ l. c. 67, 68, 69, 72.

⁴⁾ l. c. 71.

5. Die essigsäure Lösung des Hämochroms soll einen Absorptions-Streifen bei $640-630\ \mu\mu$ haben: in der salzsauren Lösung des Hämatins wird ein Streifen bei $644-633\ \mu\mu$ beschrieben.

6. Das von Herzfeld und Klinger beschriebene Verhalten der Hämochromlösungen, wonach¹⁾ „... durch Verwendung eines jeweils anderen Lösungsmittels eine deutliche Veränderung im spektroskopischen Verhalten des Farbstoffes hervorgerufen wird“, stimmt auch genau mit dem Verhalten des Hämatins überein: „die Natur des Lösungsmittels hat auf das Spektralbild des Hämatins einen großen Einfluß“²⁾. Dies stimmt übrigens auch für eine große Reihe anderer Derivate des Blutfarbstoffes.

7. Wird die bicarbonatalkoholische Lösung des Hämochroms mit ein wenig Ammoniak und einigen Tropfen einer 25proz. Lösung von Hydrazinsulfat versetzt, so erscheinen sofort die beiden Streifen des Hämochromogens. Genau so verhält sich eine Lösung von Hämatin, von dem es seit längster Zeit bekannt ist, daß es, wie oben behandelt, in Hämochromogen verwandelt wird.

8. Wenn Herzfeld und Klinger es als auffallende Tatsache hervorheben³⁾, daß sie stets denselben reduzierten Farbstoff erhielten, „der spektroskopisch dem reduzierten Hämoglobin entsprach, (und zwar auch dann, wenn sie aus oxyhämoglobinhaltigem Blute ausgegangen waren, bzw. auch, wenn sie durch den verwendeten Alkohol vorangehend Luft durchstreichen ließen), so kann dies als auffallend nur empfunden werden, wenn man, wie Herzfeld und Klinger in dem Irrtum befangen ist, daß das Spektrum des Hämochroms dem des reduzierten Hämoglobins ähnlich sei und hieraus auf eine besondere Natur des angeblichen neuen Farbstoffes folgert. Desgleichen ist es nur selbstverständlich und gar nicht auffallend, daß die Autoren zum selben Ergebnis kommen mußten, ob sie O-, CO- oder Methämoglobinblut verwendeten. Denn tatsächlich ist in allen diesen Fällen einfach Hämatin entstanden, über dessen Bildung es bekannt ist⁴⁾, daß es „... aus Oxyhämoglobin, Methämoglobin, Kohlenoxydhämoglobin oder reduziertem Hämoglobin, (aus beiden letzteren nur bei Sauerstoffzutritt) ...“ entsteht.

Wenn nun nach allen dem nicht daran zu zweifeln ist, daß bei dem von Herzfeld und Klinger eingeschlagenem Verfahren immer einfach Hämatin entstanden ist, war es doch erwünscht, dies an dem laut Vorschrift hergestellten Körper auch auf eine andere Weise zu beweisen.

¹⁾ l. c. 71.

²⁾ C. Neuberger, Der Harn I, S. 926.

³⁾ l. c. S. 69.

⁴⁾ Biochem. Handlex. VI., S. 128.

Zunächst dachte ich an eine vergleichende Eisenbestimmung. Nun war aber dieser Weg schon von vorneherein nicht aussichtsreich, da es ja sehr schwer ist, wirklich reines Hämatin, von dem ja zudem noch verschiedene Abarten, teilweise auch mit einem verschiedenen Eisengehalt¹⁾, bekannt sind, herzustellen; von der Reinheit des Hämochroms kann aber schon gar keine Rede sein (siehe weiter unten). Leider haben sich meine diesbezüglichen Befürchtungen bestätigt; wozu es noch kam, daß bei einem Versuche, das Eisen colorimetrisch zu bestimmen (bei den geringen Mengen, die mir zur Verfügung standen, war an eine andere Methode nicht zu denken), ich auch in Parallelbestimmungen am selben Präparate solche Unstimmigkeiten erhielt, daß die Resultate überhaupt nicht zu verwenden waren.

An eine Identifizierung durch Elementaranalyse war aus obigen Gründen, und infolge der von Herzfeld und Klinger hervorgehobenen Tatsache, daß auch reines Hämochrom durch NaHCO_3 verunreinigt sei, ebenfalls nicht zu denken.

Es konnte jedoch mit Aussicht auf Erfolg versucht werden, das Verhalten von Hämatin und Hämochrom auf dem Wege der Spektrophotometrie zu vergleichen, ein Verfahren, das bereits vielfach zu ähnlichen Zwecken benutzt wurde. Dabei ging ich von folgender Überlegung aus: Sind beide Farbstoffe, wie ich vermutete, identisch, so wird auch die Lichtabsorption einer bicarbonatalkoholischen Lösung von Hämatin und Hämochrom identisch sein. Ferner wird, da in Lauge beide Farbstoffe löslich sind (und der Bicarbonatgehalt des Hämochroms neben der starken Lauge von keinem großen Einflusse sein dürfte), die Lichtabsorption in den beiden wässrig-alkalischen Lösungen wieder identisch (von den alkoholischen Lösungen aber verschieden) sein. Sind aber beide Farbstoffe wider Erwarten nicht identisch, so muß sich auch ein Unterschied in der Lichtabsorption beider, "jeweilig konform hergestellter Lösungen ergeben.

Um diese Untersuchungen ausführen zu können, habe ich jeweils aus demselben Blute einerseits Hämatin nach der Vorschrift von Caze-neuve und Breteau²⁾, andererseits Hämochrom nach der Vorschrift von Herzfeld und Klinger bereitet, und aus beiden Farbstoffen 1. je eine alkoholische Lösung unter Zuhilfenahme von NaHCO_3 , 2. je eine Lösung in 5proz. wässriger Natronlauge und 3. eine bicarbonatwässrige Lösung hergestellt. (Letztere erhielt ich am Hämochrom, das an sich bereits Bicarbonat enthielt, einfach durch Lösen in destilliertem Wasser.)

¹⁾ C. Neuberg, l. c. S. 927.

²⁾ P. Cazeneuve und B. Breteau, Compt. rend. de l'Acad. des Sc. **128**, 678. 1899.

B. Spektrophotometrische Untersuchung der bicarbonat-alkoholischen und wässerig-alkalischen Lösungen von Hämatin und Hämochrom.

Es waren dies krystallklare Lösungen, die mittels des von Hári¹⁾ kalibrierten und justierten König-Martens-Grünbaumschen Spektrophotometers (große Beleuchtungsanordnung) bei einer Spaltbreite von $\frac{1}{10}$ mm längs eines möglichst großen Teiles des sichtbaren Spektrums untersucht wurden. Als Lichtquelle bediente ich mich einer Metallfadenlampe von großer Lichtintensität. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle I zusammengestellt. Natürlich wäre es erwünscht gewesen, die aus den Ablesungen berechneten Extinktionskoeffizienten auf die einheitliche Farbstoffkonzentration von 0,1% umzurechnen, und die auf diese Weise erhaltenen „spezifischen“ Extinktionskoeffizienten zu vergleichen. Leider war aber dies nicht möglich, denn weder das nach Cazeneuve hergestellte Hämatin, noch weit weniger aber das nach Herzfeld und Klinger dargestellte Hämochrom können als chemisch reine Präparate angesehen werden; es konnte also aus ihnen keine Lösung von genau bekannter Konzentration hergestellt werden, um so weniger, da beim Herstellen der Lösungen meistens nicht alles in Lösung ging und erst nach der Filtration eine klare Flüssigkeit erhalten werden konnte. Um also die Ergebnisse vergleichen zu können, mußte zu folgendem Ausweg gegriffen werden: Der an der bicarbonatalkoholischen Lösung von Hämatin I im Spektralausschnitt 541,3–533,7 μ erhaltene Extinktionskoeffizient 0,708 wurde als Vergleichsbasis gewählt, und an allen übrigen 15 Lösungen die an derselben Stelle erhaltenen Extinktionskoeffizienten gleich 0,708 gesetzt. Nach Maßgabe der Veränderung, die der ursprüngliche, an der genannten Spektralstelle erhaltene Extinktionskoeffizient in jeder einzelnen der übrigen 15 Lösungen erlitt, wurden nun auch alle anderen an den übrigen Spektralstellen erhaltenen Werte umgerechnet.

Außerdem wurden noch bezüglich je eines Lösungspaares (bicarbonatalkoholische und wässerig-alkalische Lösungen der vier Hämatine bzw. vier Hämochrome) die im obigen Sinne reduzierten Extinktionskoeffizienten in ein Koordinatensystem, das die Wellenlänge als Abszissen erhielt, als Ordinaten aufgetragen. In den auf diese Weise erhaltenen Kurven (Abb. 1) ist die Stelle, an der die Extinktionskoeffizienten aller Lösungen behufs Umrechnung der übrigen Daten gleichgesetzt wurden, durch einen Doppelpfeil bezeichnet.

¹⁾ P. Hári, Ist das Absorptionsverhältnis usw.? Diese Zeitschr. 95, 26.

Tabelle I.

Spektral- Ausschnitt ""	Bicarbonatalkoholische Lösung							
	Hämatin				Hämochrom			
	I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
653,9—638,3	—	—	0.116 (0.0608)	—	—	—	—	—
632,5—618,5	0.394	0.417 (0.328)*	0.408 (0.213)	0.406 (0.210)	0.397 (0.484)	0.398 (0.233)	—	0.390 (0.229)
622,7—609.2	0.667	0.679 (0.534)	0.630 (0.329)	0.675 (0.349)	0.596 (0.727)	0.671 (0.393)	—	0.644 (0.378)
613.2—600.8	0.855	0.850 (0.669)	0.786 (0.411)	0.872 (0.451)	0.823 (1.007)	0.851 (0.499)	0.830 (0.346)	0.866 (0.508)
604.4—592.4	0.973	0.986 (0.776)	0.913 (0.477)	0.977 (0.505)	0.845 (1.027)	0.945 (0.554)	0.953 (0.397)	0.943 (0.553)
595.9—584.6	0.974	0.983 (0.773)	0.909 (0.475)	0.979 (0.506)	0.928 (1.132)	0.993 (0.582)	0.955 (0.398)	0.990 (0.581)
588,3—577.5	0.919	0.905 (0.712)	0.849 (0.444)	0.905 (0.468)	0.806 (0.982)	0.933 (0.547)	0.878 (0.366)	0.929 (0.545)
580.3—570.5	0.844	0.848 (0.667)	0.786 (0.411)	0.838 (0.433)	0.792 (0.965)	0.851 (0.499)	0.857 (0.357)	0.866 (0.508)
573,5—563.5	0.790	0.797 (0.627)	0.750 (0.392)	0.803 (0.415)	0.702 (0.801)	0.793 (0.465)	0.785 (0.327)	0.806 (0.473)
565.6—556.1	0.794	0.726 (0.571)	0.714 (0.373)	0.737 (0.381)	0.715 (0.872)	0.737 (0.432)	0.648 (0.270)	0.750 (0.440)
559.6—551.0	0.704	0.683 (0.537)	0.664 (0.347)	0.679 (0.351)	0.654 (0.797)	0.699 (0.410)	0.703 (0.293)	0.694 (0.407)
553,5—544.8	0.665	0.677 (0.533)	0.656 (0.344)	0.675 (0.349)	0.660 (0.804)	0.677 (0.397)	0.689 (0.287)	0.689 (0.404)
547,3—539.0	0.684	0.696 (0.548)	0.660 (0.345)	0.675 (0.349)	0.656 (0.800)	0.669 (0.392)	0.703 (0.293)	0.696 (0.407)
541.5—533.7	0.708	0.708 (0.557)	0.708 (0.370)	0.708 (0.366)	0.708 (0.863)	0.708 (0.415)	0.708 (0.295)	0.708 (0.425)
535.9—528.4	—	—	—	—	—	—	—	—
530.7—523,3	—	0.805 (0.633)	0.785 (0.410)	0.830 (0.429)	—	0.816 (0.478)	0.821 (0.342)	0.818 (0.480)
520,3—513.6	—	0.951 (0.748)	0.853 (0.446)	0.915 (0.473)	—	0.914 (0.536)	0.905 (0.377)	0.939 (0.551)
511,1—504,6	—	1.037 (0.816)	0.953 (0.498)	1.020 (0.527)	—	1.010 (0.592)	1.020 (0.428)	1.040 (0.608)

*) Die in Klammern befindlichen Zahlen bedeuten immer die aus den Ablesungen unmittelbar berechneten Extinctions-Coeffizienten; die darüber befindlichen nicht eingeklammerten die umgerechneten.

Es genügt nun ein Blick auf die Kurven, um erkennen zu lassen, daß, von einigen Unstimmigkeiten abgesehen, die von unvermeidlichen Versuchsfehlern verursacht sind:

1. die Lichtabsorption der 8 bicarbonatalkoholischen Lösungen längs dem untersuchten Spektrum sich identisch verhält, ob die Lösung Hämatin oder Hämochrom enthält:

2. auch die Kurven der wässrig-alkalischen Lösungen haben einen identischen Verlauf, ob diese Hämatin oder Hämochrom enthalten:

Tabelle I.

Lösung in 5 proz. Natronlauge							
Hämatin				Hämochrom			
I.	II.	III.	IV.	I.	II.	III.	IV.
—	0,321	0,326	0,322	—	0,341	0,322	0,347
—	(0,216)	(0,177)	(0,177)	—	(0,175)	(0,130)	(0,154)
0,619	0,500	0,609	0,599	0,593	0,552	0,568	0,559
(0,494)	(0,377)	(0,331)	(0,320)	(0,461)	(0,283)	(0,229)	(0,248)
—	—	0,684	0,691	—	0,646	—	0,658
—	—	(0,372)	(0,369)	—	(0,331)	—	(0,292)
0,790	0,769	0,771	0,757	0,731	0,708	0,713	0,726
(0,630)	(0,518)	(0,419)	(0,404)	(0,568)	(0,363)	(0,288)	(0,322)
0,791	0,794	0,809	0,790	0,756	0,714	0,755	0,744
(0,631)	(0,535)	(0,440)	(0,422)	(0,587)	(0,366)	(0,305)	(0,330)
0,805	0,812	0,829	0,788	0,758	0,716	0,762	0,749
(0,642)	(0,547)	(0,451)	(0,421)	(0,589)	(0,367)	(0,308)	(0,332)
0,806	0,818	0,829	0,792	0,761	0,740	0,762	0,749
(0,643)	(0,551)	(0,451)	(0,423)	(0,591)	(0,380)	(0,308)	(0,332)
0,806	0,815	0,806	0,790	0,775	0,747	0,760	0,751
(0,643)	(0,549)	(0,438)	(0,422)	(0,602)	(0,383)	(0,307)	(0,333)
0,784	0,799	0,798	0,785	0,753	0,745	0,753	0,751
(0,626)	(0,538)	(0,434)	(0,419)	(0,585)	(0,382)	(0,304)	(0,333)
0,762	0,764	0,778	0,774	0,748	0,713	0,738	0,744
(0,608)	(0,515)	(0,423)	(0,413)	(0,581)	(0,366)	(0,298)	(0,330)
0,736	0,718	0,765	0,717	0,711	0,708	0,713	0,726
(0,587)	(0,484)	(0,416)	(0,383)	(0,552)	(0,363)	(0,288)	(0,322)
0,709	0,693	0,710	0,687	0,690	0,659	0,711	0,706
(0,566)	(0,467)	(0,386)	(0,367)	(0,536)	(0,338)	(0,287)	(0,313)
0,691	0,689	0,704	0,695	0,684	0,657	0,697	0,701
(0,551)	(0,464)	(0,383)	(0,371)	(0,531)	(0,337)	(0,281)	(0,311)
0,708	0,708	0,708	0,708	0,708	0,708	0,708	0,708
(0,565)	(0,477)	(0,385)	(0,378)	(0,550)	(0,363)	(0,286)	(0,314)
0,719	0,718	0,734	0,717	0,713	0,718	0,693	0,746
(0,574)	(0,484)	(0,399)	(0,383)	(0,554)	(0,368)	(0,280)	(0,331)
0,762	0,766	0,769	0,727	0,771	0,710	0,725	0,789
(0,608)	(0,516)	(0,418)	(0,388)	(0,599)	(0,364)	(0,293)	(0,350)
0,856	0,819	0,864	0,847	0,839	0,817	0,810	0,884
(0,683)	(0,552)	(0,470)	(0,452)	(0,652)	(0,419)	(0,327)	(0,392)
—	0,914	0,964	0,950	0,929	0,944	0,923	0,990
—	(0,616)	(0,524)	(0,507)	(0,722)	(0,484)	(0,373)	(0,439)

3. die Lichtabsorption einer bicarbonatalkoholischen Lösung ist von der einer wässrig-alkalischen Lösung genau im selben Maße verschieden, ob es sich um Hämatin oder Hämochrom handelt.

4. Der Quotient der Absorptionsverhältnisse an zwei Stellen des Spektrums, der zuerst von Hüfner für verschiedene Hämoglobingasverbindungen berechnet und als besonders charakteristisch erkannt wurde, also Absorptionsverhältnis 541,5—533,7 $\mu\mu$: Absorptionsverhältnis 565,6—556,1 $\mu\mu$; oder, was auf dasselbe hinauskommt, Extinktionskoeffizient 565,6—556,1 $\mu\mu$: Extinktionskoeffizient 541,5—533,7 $\mu\mu$ beträgt, wie aus Tabelle II ersichtlich.

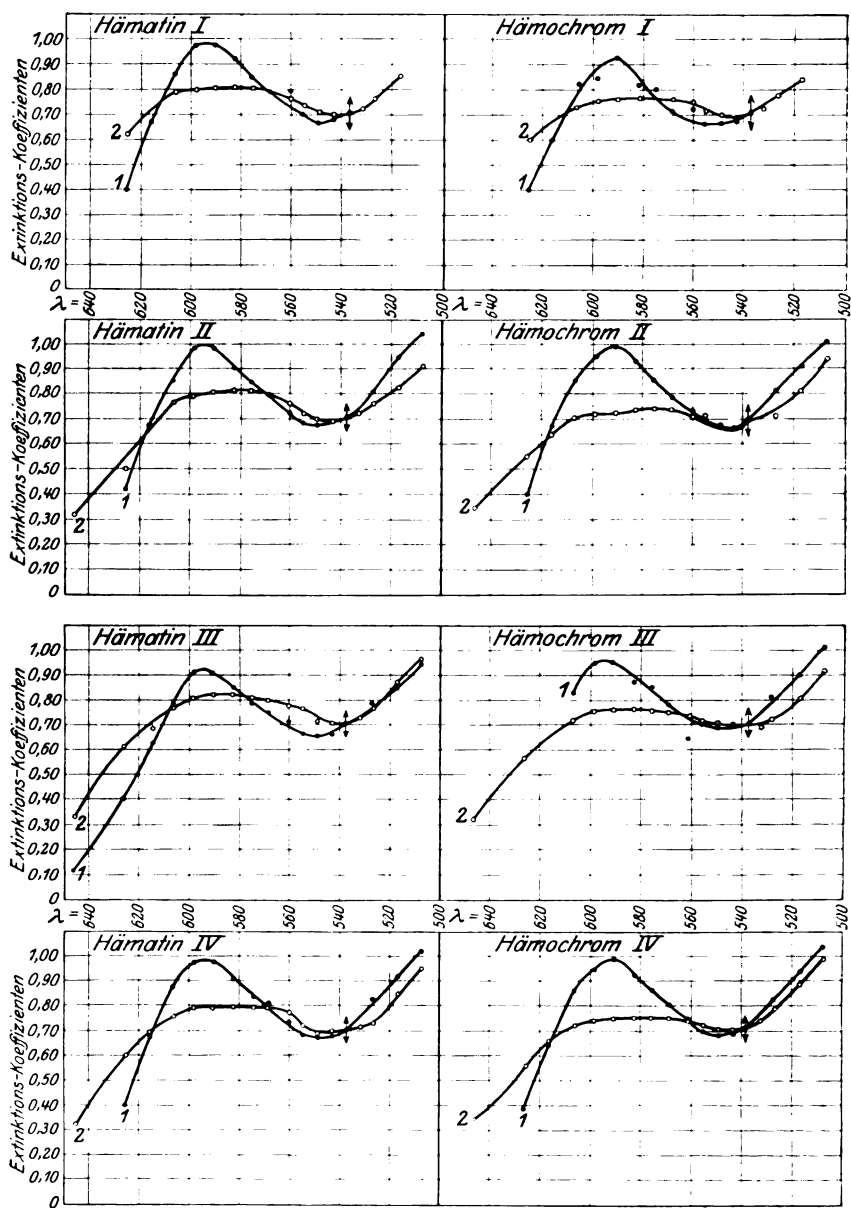


Abb. 1. Kurven Nr. 1. Lösungsmittel: Bicarbonathaltiger Alkohol. Kurven Nr. 2. Lösungsmittel: 5 proz. wässrige Natronlauge.

Tabelle II.

Präp.-Nr.	Bicarbonatalkoholische Lösung		Lösung in 5proz. Lauge	
	Hämatin	Hämochrom	Hämatin	Hämochrom
I	1,121	1,010	1,076	1,056
II	1,025	1,041	1,079	1,007
III	1,008	?	1,099	1,042
IV	1,041	1,059	1,093	1,051
Mittelwerte:	1,049	1,037	1,087	1,039

Also sind in der bicarbonatalkoholischen Lösung die Quotienten beinahe identisch, ob es sich um Hämatin oder Hämochrom handelt. In der wässrigalkalischen Lösung besteht wohl ein gewisser Unterschied, der jedoch auch hier nicht mehr als 4% beträgt und vielleicht von dem mitenthaltenen Bicarbonat des Hämochroms herrühren könnte.

C. Spektrophotometrische Untersuchung der bicarbonatwässrigen Lösungen von Hämatin und Hämochrom.

Herzfeld und Klinger beschreiben auch eine deutlich kolloidale wässrige Lösung ihres Hämochroms, die spektroskopisch geprüft, einen Absorptionsstreifen bei 620—610 $\mu\mu$ aufweisen, daher ein Spektrum haben soll, das dem Methämoglobinspektrum ähnlich sei. Auch von dieser Lösung ist es leicht nachzuweisen, daß es sich wieder bloß um Hämatin, und nicht um einen neuen Körper handelt, nur ist das Lösungsmittel diesmal eine ganz verdünnte Lösung von NaHCO_3 . Denn löst man einmal Hämochrom (das ja mit NaHCO_3 verunreinigt ist) in Wasser, einmal aber Hämatin in einer 2proz. Lösung von NaHCO_3 , so verhalten sich beide Lösungen wieder ganz identisch. Die Angabe der Autoren, daß im Spektrum der wässrigen Lösung des Hämochrom sein Absorptionsstreifen bei 620—610 $\mu\mu$ sichtbar sei, ist soweit richtig; nur darf nicht vergessen werden, daß das, was dem bloß mit einem Spektroskope bewaffneten Auge als Streifen erscheint, sich seiner Ausdehnung nach nicht immer mit dem Gang der Lichtabsorption längs des Spektrums deckt (siehe weiter unten).

Ich habe von einigen der vorangehend beschriebenen Präparate I—IV (jeweils Hämochrom und Hämatin) bicarbonatwässrige Lösungen im obigen Sinne hergestellt, und diese der spektrometrischen Prüfung, wie vorangehend beschrieben, unterworfen. Gerade infolge der auch von Herzfeld und Klinger erwähnten kolloidalen Beschaffenheit dieser Lösungen ließen sich aber die Ablesungen nicht mit der gewünschten Genauigkeit vornehmen und auch nur an zwei Präparatenpaaren (Hämatin und Hämochrom I und II) so durchführen, daß ein Vergleich möglich war. Gerade weil es sich nicht um wasserklare (wie sub B), sondern um kolloidale, in größerer Schichtdicke etwas getrübbte Flüssigkeiten han-

delte, haben die in Tabelle III mitgeteilten, genau wie in Tabelle I berechneten, Zahlen nicht den Anspruch, als aus einer exakten Beobachtung hervorgegangen betrachtet zu werden wie die der Tabelle I, und seien, wie auch die aus ihnen konstruierten Kurven (Abb. 2) nur des Vergleiches (von Hämatin und Hämochrom) halber mitgeteilt.

Tabelle III.

Spektral- Ausschnitt $\mu\mu$	Bicarbonatwässrige Lösung			
	Hämatin		Hämochrom	
	I.	II.	I.	II.
653,9—638,3	0,307 (0,250)*	0,395 (0,249)	0,373 (0,311)	0,298 (0,148)
632,5—618,5	0,512 (0,417)	0,627 (0,395)	0,578 (0,482)	0,510 (0,425)
622,7—609,2	0,594 (0,484)	0,675 (0,425)	—	0,649 (0,541)
613,2—600,8	0,623 (0,508)	0,730 (0,460)	0,703 (0,586)	0,704 (0,587)
604,4—592,4	0,661 (0,539)	0,706 (0,445)	0,707 (0,589)	0,690 (0,575)
595,9—584,6	0,659 (0,537)	0,706 (0,445)	0,706 (0,588)	0,703 (0,586)
588,3—577,5	0,663 (0,540)	0,705 (0,444)	0,713 (0,594)	0,725 (0,604)
580,3—570,5	0,680 (0,554)	0,710 (0,447)	0,706 (0,588)	0,724 (0,603)
573,5—563,5	0,699 (0,570)	0,706 (0,445)	—	0,725 (0,604)
565,6—556,1	0,703 (0,573)	0,705 (0,444)	0,708 (0,590)	0,703 (0,586)
559,6—551,0	0,691 (0,563)	0,705 (0,444)	—	0,682 (0,568)
553,5—544,8	0,702 (0,572)	0,705 (0,444)	0,706 (0,588)	0,684 (0,570)
547,3—539,0	0,703 (0,573)	0,705 (0,444)	—	0,686 (0,572)
541,5—533,7	0,708 (0,577)	0,708 (0,446)	0,708 (0,590)	0,708 (0,590)
530,7—523,3	0,771 (0,628)	0,764 (0,481)	0,773 (0,644)	0,772 (0,644)
520,3—513,6	0,821 (0,671)	0,819 (0,516)	0,848 (0,707)	0,848 (0,707)
511,1—504,6	0,877 (0,715)	0,929 (0,585)	0,926 (0,772)	0,946 (0,788)

*) Die zwischen Klammern befindlichen Zahlen bedeuten die aus den Ablesungen berechneten Extinktionskoeffizienten, die darunter befindlichen nicht eingeklammerten die umgerechneten.

Den Zahlen, wie auch den Kurven ist zu entnehmen:

1. Das, was dem mit dem Spektroskope bewaffneten Auge als Streifen bei 620—610 $\mu\mu$ erscheint, wird eigentlich durch die an allen vier Kurven (ob es eine Hämatin- oder eine Hämochromlösung war) deutlich sichtbare Stufe in der Nähe von etwa 608 $\mu\mu$ vorgetäuscht,

indem rotwärts von dieser Stelle die Lichtabsorption jäh abfällt, violettwärts hingegen längs eines gedehnten Plateaus bis etwa $540\text{ }\mu\mu$ beinahe unverändert bleibt. Von einer Übereinstimmung mit dem Methämoglobin, das in neutraler Lösung ein Maximum der Lichtabsorption bei $630,4\text{ }\mu\mu$, in soda-alkalischer Lösung hingegen überhaupt kein Absorptionsmaximum in Rot, sondern einen annähernd gleichmäßigen Anstieg der Lichtabsorption bis etwa $575\text{ }\mu\mu$ aufweist¹⁾, kann keine Rede sein.

2. Hämatin und Hämochrom verhalten sich bezüglich der Lichtabsorption auch in ihren bicarbonatwässrigen Lösungen identisch. Die Unregelmäßigkeiten im Verlaufe der Kurven rühren von den erwähnten Schwierigkeiten der Ablesungen her.

3. Bezüglich der früher genannten Quotienten der Absorptionsverhältnisse verhalten sich Hämatin und Hämochrom wie folgt:

Tabelle IV.

Präp.-Nr.	Bicarbonatwässrige Lösung	
	Hämatin	Hämochrom
I	0,993	1,000
II	0,996	0,993
Mittelwerte: 0,994		0,996

Also eine Übereinstimmung, die in dieser Vollkommenheit eine ebenso zufällige ist, wie die wenige Prozente betragenden Unstimmigkeiten in Tabelle II.

Aus den sub A., B. und C. mitgeteilten Ergebnissen lassen sich folgende Schlüsse ziehen: Daß die Lösungen von Hämatin ein verschiedenes Spektrum haben, je nachdem das Lösungsmittel ein verschiedenes ist, ist, wie bereits erwähnt, eine altbekannte Tatsache. Wenn aber Hämatin und Hämochrom in bicarbonatalkoholischer Lösung einen gewissen Verlauf der Lichtabsorption zeigen, in wässriger Lauge

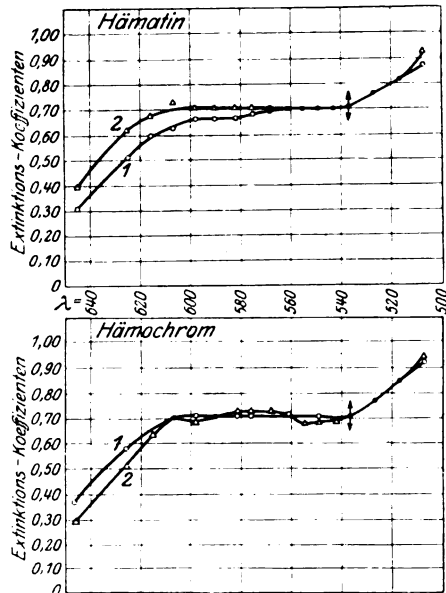


Abb. 2. Kurven Nr. 1: Hämatin bzw. Hämochrom I.
Kurven Nr. 2: Hämatin bzw. Hämochrom II.

¹⁾ P. Hári, diese Zeitschr. **103**, 271.

gelöst einen anderen Verlauf, in bicarbonatwässriger Lösung wieder einen anderen Verlauf aufweisen, der jedoch jeweils derselbe ist, ob die Lösung Hämatin oder Hämochrom enthielt, ist damit unwiderleglich erwiesen, daß Hämatin und Hämochrom identisch sind; bzw. daß es einen von dem Hämatin verschiedenen Farbstoff, der von Herzfeld und Klinger mit dem Namen Hämochrom belegt wurde, nicht gibt; desgleichen auch, daß es kein Hämochrom gibt, das die Muttersubstanz von Hämatin, Hämochromogen usw. wäre.

Diese Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Hári ausgeführt.

Über Fibrinolyse.

III. Mitteilung.

Von

M. Rosenmann.

(Aus dem Chemischen Laboratorium der Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 19. Januar 1922.)

In den vorigen Mitteilungen¹⁾ wurden die Bedingungen angegeben, unter welchen das Thrombolsin seine optimale Wirksamkeit entfaltet und dessen physikalische und chemische Eigenschaften kurz beschrieben. Es wurden bereits dort einige Eingriffe erwähnt, die das Thrombolsin zerstören oder, wie z. B. ein bestimmter Säure- oder Alkaleszenzgrad, hemmen. Im folgenden sollen jene Umstände näher erörtert werden, unter denen die Fibrinolyse gehemmt resp. verzögert wird und ein Körper in seinen biologischen und chemischen Eigenschaften näher charakterisiert werden, der die fermentative Wirkung des Thrombolsins hemmt und welchen wir „Thromboligin“ (ligare festigen) nennen wollen.

Hemmende Wirkung des Chloroforms.

Nachdem die fibrinolytische Wirkung des Fibrinautolysates festgestellt war, zeigte sich die Notwendigkeit, ein Antiseptikum ausfindig zu machen, welches jeden bakteriellen Einfluß von vornherein ausschließen soll. Denn während man die Entwicklung von Bakterien im nativen Fibrin durch steriles Auffangen desselben und Vorbehandeln mit 25proz. Alkohol verhindern konnte, ließen die sich daran anschließenden fibrinolytischen Versuche, die anfangs in einer 8proz. NaCl-Lösung ausgeführt wurden, den Einfluß von Bakterien nicht mit Sicherheit ausschalten.

Es wurde daher mit Rücksicht darauf, daß die ersten Autolyseversuche von Salkowski³⁾ mit Chloroformwasser ausgeführt wurden, versucht, Chloroform als Antisepticum zu verwenden. Die Verwendung des Chloroforms erwies sich aber bald als unzweckmäßig, da es sich zeigte, daß dasselbe die Fibrinolyse stark hemmt. Erst nachdem die Darstellung des Thrombolsins in fast ganz gereinigtem Zustande gelungen und in der 3proz. NaFl-Lösung ein sehr brauchbares Lösungs-

mittel und Antisepticum gefunden war, konnte die hemmende Wirkung des Chloroformwassers näher untersucht werden.

Versuch 1. Vier Eprovetten werden mit je 5 ccm 8proz. Kochsalzlösung und vier Eprovetten mit 3proz. NaFl-Lösung gefüllt. In je zwei Eprovetten wird die Kochsalzlösung resp. NaFl-Lösung mit Chloroform gesättigt. Die anderen Eprovetten blieben ohne Chloroformzusatz. In je eine Eprovette von den mit 8proz. Kochsalzlösung plus Chloroform sowie ohne Chloroform und von den mit NaFl allein resp. mit NaFl plus Chloroform beschickten Eprovetten wird 0,3 Thrombolysin hinzugefügt. Hierauf werden in alle Eprovetten gleich große Stückchen Plasmafibrin gegeben und das Ganze bei 37° der Fibrinolyse ausgesetzt. Das Plasmafibrin, war einige Wochen alt, so daß es leicht der Autolyse verfiel.

Tabelle I.

	Lösungs- mittel	Fibrin	Zusatz	Temp.	24h	48h	3Tage	5Tage	7Tage	9Tage
1. Thrombolysin 0.5 ccm	8 $\frac{0}{0}$ NaCl	Plasmafibrin	} Gesättigt mit	36°	-	+	+	+	+	+
2. —	8 $\frac{0}{0}$..			36°	-	-	-	-	+	+
3. Thrombolysin 0.5 ccm	8 $\frac{0}{0}$..		} Chloroform	36°	+	+	+	+	+	+
4. —	8 $\frac{0}{0}$..			36°	-	-	-	+	+	+
5. Thrombolysin 0.5 ccm	3 $\frac{0}{0}$ NaFl	Altes Plasmafibrin	} Gesättigt mit	36°	-	+	+	+	+	+
6. —	3 $\frac{0}{0}$..			36°	-	-	-	+	+	+
7. Thrombolysin 0.5 ccm	3 $\frac{0}{0}$..		} Chloroform	36°	+	+	+	+	+	+
8. —	3 $\frac{0}{0}$..			36°	-	-	+	+	+	+

Bei 1. 2. 5 und 6 zerbröckelt das Fibrin.

Aus dieser Tabelle ist zu erschen, daß die Fibrinolyse durch das Chloroform gehemmt wird. Erst nach Tagen wird das Fibrin endlich brüchig, so daß es beim Schütteln zerfällt. In den Eprovetten mit gesättigter Chloroformlösung trat bei Thrombolysinzusatz eine Trübung ein, die offenbar der Wirkung des Chloroforms zuzuschreiben ist.

Hemmung der Fibrinolyse durch Ammonsulfat, Chlorzink und Säuren und Alkalien.

Als weitere die Fibrinolyse hemmende Mittel seien hier besonders das Ammonsulfat und das Chlorzink erwähnt. Die hemmende Wirkung dieser Salze ist auf ihre das Thrombolysin fällende Wirkung zurückzuführen. Hemmend auf die Fibrinolyse wirken Säuren und Alkalien. Dabei ist es aufgefallen, daß, während verdünnte Säuren und Alkalien die Fibrinolyse durch Thrombolysin hemmen, die Autolyse des Plasmafibrins durch verdünnte Säuren und Alkalien ohne Thrombolysinzusatz nicht gehemmt wird. Es zeigt sich hier ein Unterschied zwischen der Fibrinolyse bei Thrombolysinzusatz gegenüber der Autolyse des Fibrins unter der Einwirkung verschiedener Salzlösungen. Es ist dieser Unterschied ein Analogon zu dem bereits von Dastor festgestellten Unterschied in der Zusammensetzung der Autolyseprodukte des Fibrins, je nachdem er als Ausgangsmaterial ein leukocytenhaltiges oder leukocytenfreies Fibrin verwendet hat.

Schon während der ersten Versuche ist es aufgefallen, daß das Fibrin welches längere Zeit unter der Wasserleitung gewaschen wurde, sowohl der Autolyse als der Fibrinolyse rascher verfiel als ein nur kurze Zeit gewaschenes Fibrin. Dieses Verhalten konnte nur so erklärt werden, daß dem frischen nicht gewaschenen Fibrin offenbar von Haus aus hemmende Substanzen anhaften, welche beim Waschen durch das fließende Wasser weggelöst werden, so daß bei längerem Waschen nur wenige die Fibrinolyse hemmende Substanzen zurückbleiben. Um diese Annahme zu stützen, wurde ein frischer Fibrinzylinder vor dem Waschen in 2 Teile geteilt und die eine Hälfte 24 Stunden unter der Wasserleitung gewaschen, während die andere Hälfte bei derselben Temperatur im Serum belassen wurde. Beide Fibrine wurden hierauf der Autolyse resp. Fibrinolyse ausgesetzt.

Tabelle II.

	Fibrin	Lösungs- mittel	Temp.	24h	48h	3 Tg.	5 Tg.	7 Tg.	8 Tg.	12 Tg.
1. Thrombolylin 0.3 ccm	Nichtgewasch.	3% NaFl	37°	—	+	+	+	+	+	+
2. „ 0.3 ccm	Gewaschenes	3% „	37°	+	+	+	+	+	+	+
3. —	Nichtgewasch.	3% „	37°	—	—	—	—	—	—	—
4. —	Gewaschenes	3% „	37°	—	—	+	+	+	+	+

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß die Lösung des ungewaschenen Fibrins durch Thrombolylin verzögert ist, ferner daß die Autolyse desselben Fibrins beinahe ganz aufgehoben ist.

Hemmung der Fibrinolyse durch menschliches Serum.

Es war naheliegend, anzunehmen, daß die verzögerte Fibrinolyse, welche bei ungewaschenem Fibrin beobachtet wurde, von hemmenden Stoffen herrühre, die im Serum wieder zu finden sein werden. Die daraufhin angestellten Versuche bestätigten diese Annahme. Sorgfältig gewaschenes Plasmafibrin wird mit Serum vom Menschen versetzt und dann Thrombolylin zugefügt. In einer anderen Versuchsreihe wird gewaschenes Plasmafibrin + Pferdeserum der Fibrinolyse durch Thrombolylin ausgesetzt. Erwähnt sei, daß bei allen Versuchen das

Tabelle III.

	Serum	Lösungs- mittel	Temp.	Fibrin	24h	48h	3 Tage	5 Tage	9 Tage
1. Thrombolylin 0.5 ccm	Pferdeserum 1.0	3% NaFl	37°	Plasmafibrin, gewaschen	—	—	+	+	+
2. „ 0.3 ccm	„ 1.0	3% „	37°		—	—	+	+	+
3. „ 0.5 ccm	Serum Mensch 1.0	3% „	37°		—	—	+	+	+
4. „ 0.5 ccm	—	3% „	37°		+	+	+	+	+
5. —	—	3% „	37°		—	—	+	+	+
6. —	Pferdeserum 1.0	3% „	37°		—	—	—	—	—

Plasmafibrin nach der in der ersten Arbeit angegebenen Methode hergestellt wurde.

Zur Kontrolle wurde in eine Eprovette NaFl ohne Thrombolylin und Thrombolylin ohne Serum + NaFl zum Plasmafibrin zugefügt.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß das Serum die Fibrinolyse hemmt. Es hat den Anschein, als ob das bei der Chlorcalciumgerinnung des Oxalatplasmas vom Pferde gewonnene Serum stärker wirksam wäre, als das menschliche Serum. Es könnte sich hier um eine spezifische Wirkung des arteigenen Serums auf das Fibrin handeln.

Wirkung stark verdünnter Serumlösungen.

Mit Rücksicht darauf, daß Nolf²⁾ auf Grund seiner Gerinnungsversuche, auf die wir noch später zurückkommen werden, vermutet, daß im Serum der Säuger oder der höheren Wirbeltiere sowohl ein Faktor der Fibrinolyse als auch ein Faktor der Hemmung der Fibrinolyse einander das Gleichgewicht halten, und daß in stark verdünnten Serumlösungen der lösende Faktor überwiegt, war es von Interesse nachzuschauen, ob stark verdünnte Serumlösungen das gewaschene Plasmafibrin zur Lösung bringen. Nolf identifizierte den lösenden Faktor mit dem Thrombozym, während der hemmende Faktor, den er Antithrombolylin nennt, von der Leber herrühren sollte. Es wurden daher entsprechend den von Nolf gewählten Verdünnungen verschiedene Serumkonzentrationen vom menschlichen und Pferdeserum aufgestellt und mit denselben fibrinolytische Versuche angestellt.

Tabelle IV.

	Pl-Fibrin	Lösungsmittel	Temp.	24h	48h	3Tage	5Tage	6Tage	7Tage
1. Serum 1:200 1,0 cem	Pl-Fibrin	5 cem 3% NaFl	37°	—	—	—	—	—	—
2. „ 1:200 0,5 cem	„	5 cem 3% „	37°	—	—	—	—	—	—
3. „ 1:200 0,1 cem	„	5 cem 3% „	37°	—	—	—	—	—	+
4. „ 1:600 0,3 cem	„	5 cem 3% „	37°	—	—	—	—	+	+
5. „ 1:600 0,1 cem	„	5 cem 3% „	37°	—	—	—	+	+	+
6. —	„	5 cem 3% „	37°	—	—	—	+	+	+
7. Thrombolylin 0,5 cem	„	5 cem 3% „	37°	+	+	+	+	+	+

Dieser Versuch lehrt uns, daß auch sehr stark verdünnte Serumlösungen nicht nur keine Fibrinolyse erzeugen, sondern sogar dieselbe hemmen. Spricht schon dieser Versuch gegen die Annahme Nolfs, so scheint uns der Umstand, daß, wie weiter unten noch erörtert werden soll, die Organextrakte, die nach Nolf viel Thrombozym, also viel von dem fibrinolytischen Faktor enthalten sollen, daß gerade diese Extrakte stark die Fibrinolyse hemmen, gegen die Annahme Nolfs zu sprechen. Im Übrigen scheint uns der Versuch, den Nolf zur Unterstützung seiner Annahme anführt, wenig beweisend. Nolf erzeugt

nämlich mit stark verdünnten Serumlösungen, die einer Fibrinogenlösung zugesetzt werden, Gerinnsel und beobachtet, nach welcher Zeit sich diese Gerinnsel lösen. Er findet nun, daß die Lösung um so rascher erfolgt, je geringer die Serummenge war, die zugefügt wurde. Er schließt daraus, daß bei stark verdünnten Lösungen der lytische Faktor überwiegt. Es scheint uns jedoch die Erklärung wahrscheinlicher zu sein, daß bei stark verdünnten Serumlösungen wohl ein Gerinnsel entstehe, welches aber wegen der ungünstigen Zusammensetzung der einzelnen Komponenten nicht hinreichend resistent ist. Es würde dies mit der auch sonst bekannten Tatsache übereinstimmen, daß ein unter für die Gerinnung ungünstigen Bedingungen erzeugtes Fibrin der Autolyse leichter verfällt als ein normales Fibrin.

Antithrombolsin im Plasma.

Da die Tatsache, daß Thrombolsin aus dem Fibrin gewonnen werden konnte, die Vermutung nahelegte, daß normalerweise im Blute sich das Thrombolsin und Thromboligin als neutraler Körper befindet und daß dieser Körper bei der Gerinnung in Thrombolsin und Antithrombolsin gespalten wird, von denen das Eine mit dem Fibrin mitgerissen, während das Andere im Serum zurückbleibt, so wurde auch das Plasma auf dessen lösungshemmendes Vermögen untersucht. Die Versuchsanordnung ist die gleiche wie im Versuch 3, nur daß statt Serum Oxalatplasma verwendet wird.

Tabelle V.

		Pferdeplasma	Lösungs- mittel	24h	3 Tage	6 Tage
1.	Thrombolsin 0,5 cem	Mit Na-Oxalat versetzt 1,0	3% NaFl	—	—	+
2.	„ 0,5 cem	„ „ „ 0,5	3% „	—	+	+
3.	„ 0,5 cem	—	3% „	+	+	+
4.	„ 0,5 cem	—	3% „	—	—	—

Dieser Versuch zeigt, daß auch das Plasma die Fibrinolyse hemmt.

Thromboligengehalt des Serums bei Lues und Tuberkulose.

Es wurden bis jetzt mehrere Sera auf ihr lösungshemmendes Verhalten untersucht, dabei fiel es auf, daß im allgemeinen bei Lues und Tuberkulose der Antithrombolsingehalt vermehrt ist. Die Zahl der Untersuchungen ist jedoch bis jetzt nicht hinreichend groß, um daraus Schlüsse ziehen zu können. Es scheint sich aber zu ergeben, daß die hemmende Wirkung der einzelnen tuberkulösen Sera verschieden ist, je nachdem es sich um eine rasch fortschreitende Phtise mit Zerfallsherden oder um chronische fibröse Tuberkulose handelt, bei welcher letzterer die Hemmung viel stärker zu sein scheint. Es war nun naheliegend,

aus diesem Grunde den tuberkulösen Käse auf sein fibrinolytisches Vermögen zu untersuchen. Es wurde tuberkulöser Käse einer käsigen Pneumonie mit Kochsalz verrieben und in 3 proz. Chlornatrium untersucht. Es zeigte sich aber, daß in dem mit tuberkulösem Käse versetzten Eprouvetten die Fibrinolyse später eintrat als in den mit Chlornatrium allein.

Antifibrinolytisches Verhalten der Exsudate, Transsudate, der Ödemflüssigkeiten und des Liquor Cerebrospinalis.

Da bereits früher im tuberkulösen Pleuraexsudat, wie in der ersten Mitteilung berichtet wurde, eine die Fibrinolyse stark hemmende Flüssigkeit gefunden war, so war es von Interesse, zu untersuchen, ob dieses Verhalten nur einfach durch das gleiche Verhalten des Serums zu erklären ist und ob das antifibrinolytische Vermögen allen Körperflüssigkeiten zukomme. Es wurden zunächst verschiedene Pleuraexsudate auf ihren Gehalt an antifibrinolytischen Körpern untersucht. Unter anderem wurden auch nichttuberkulöse Pleuraexsudate untersucht. Es zeigte sich, daß auch bei nichttuberkulösen Exsudaten Thrombolygin nachweisbar ist, wenn auch nicht in solchen reichlichen Mengen wie in tuberkulösen Exsudaten. Als zweiter Typus von Exsudatflüssigkeiten wurde Ascitesflüssigkeit untersucht. Im allgemeinen sind die peritonitischen Exsudate ärmer an Thrombolygin als die Pleuraexsudate, aber auch hier zeigte es sich, daß die tuberkulösen Exsudate stärker hemmen als die nichttuberkulösen. Hierher gehört auch die

Tabelle VI.

	ccm	Fibrin	Klinische Diagnose	Thrombolytin	Lösungsmittel	Temp.	2h	4h	7Tage	14Tage
1.	Ascites	1.0	Pl.-Fibr.	Lebereirrhose	0,5 ccm	3% NaFl	37°	+	+	+
2a.	Pleuraexsudat . . .	1.0	"	Pleurit. postpneumon.	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
b.	"	0.5	"	"	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
c.	"	0.3	"	"	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
3a.	"	1.0	"	Pl. rheumatica	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
b.	"	0.5	"	"	—	3% "	37°	—	—	+
c.	"	0.3	"	"	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
4a.	Ascites	1.0	"	Carcinosis	0,3 ccm	3% "	37°	—	—	+
b.	"	0.5	"	Peritonei	0,3 ccm	3% "	37°	+	+	+
c.	"	0.2	"	"	0,3 ccm	3% "	37°	+	+	+
5.	Liquor cerebrospinalis	1.0	"	Multiple Sklerose	0,3 ccm	3% "	37°	+	+	+
6.	Oedemflüssigkeit	1.0	"	Ac. Insuff.	0,5 ccm	3% "	37°	+	+	+
7.	Transsudat		"	Hydro. Thorax	0,3 ccm	3% "	37°	+	+	+
8.	Ascites	1.0	"	Tbc. perit.	0,3 ccm	3% "	37°	—	—	+
9.	"	0.5	"	"	0,3 ccm	3% "	37°	—	—	+
10.	Pleuraexsudat . . .	1.0	"	Pl. tbc.	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
11.	"	0.5	"	"	0,5 ccm	3% "	37°	—	—	+
12.	Pericarditis etc.	1.0	"	Pericarditis uraens	0,3 ccm	3% "	37°	—	—	+
13.	—		"	—	0,3 ccm	3% "	37°	+	+	+
14.	—		"	—	—	3% "	37°	—	—	+

Beobachtung, daß pneumonische Lungenextrakte, welche aus Lungen, die sich im Stadium der roten Hepatisation befinden, gewonnen wurden, die Autolyse des Plasmafibrins verzögern.

Anders verhalten sich Flüssigkeiten, welche durch Punktionen bei allgemeiner Stauung gewonnen wurden, und welche Transsudatcharakter haben. Es gehören hierher Punktionsflüssigkeiten von Hydrothorax sowie Ascitesflüssigkeit bei Herzinsuffizienz oder bei Lebercirrhose usw. Diese Transsudatflüssigkeiten hemmen nur sehr wenig die Fibrinolyse. Genau so verhält sich in bezug auf die Hemmung der Fibrinolyse der Liquor cerebrospinalis und Punktionsflüssigkeit von Ödemen, die durch Ablassen von Ödemflüssigkeit aus den Unterschenkeln mittels der Curschmannschen Nadeln gewonnenen wurde. Es sei noch erwähnt, daß die Hemmung der Fibrinolyse, die bei Pleuraexsudaten festgestellt wurde, an Stärke die Hemmung durch das Serum übertraf. Das verschiedene Verhalten der genannten Körperflüssigkeiten ist in vorstehender Tabelle zusammengestellt.

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß das Lösungshemmende Verhalten der Exsudate nicht auf das lösungshemmende Vermögen des Serums zurückzuführen ist und daß die verschiedenen Körperflüssigkeiten sowohl unter normalen als pathologischen Verhältnissen sich verschieden verhalten.

Antifibrinolytische Wirkung des Preßsaftes von Lunge, Schilddrüse, Niere, Leber und Herzmuskel.

Da gerade in der Lunge Prozesse häufig sind, welche durch eine Hemmung der Fibrinolyse gekennzeichnet sind, wie z. B. in den ersten Stadien der croupösen Pneumonie (I. und II. Stadium) und bei der Indurativpneumonie sowie bei den entzündlichen Erkrankungen der Pleura, so wurde zunächst untersucht, ob nicht schon im normalen Lungengewebe ein Thrombolysin vorhanden ist.

Zu diesem Behufe wurde frisches Lungengewebe von einem Rind zunächst in grobe Stückchen zerteilt und zur Entfernung des Blutes gründlich gewaschen. Hierauf wurde dasselbe mit Quarzsand zerrieben, mit Kochsalz gründlich verrührt und mittels eines Tuches ausgepreßt. Dieses verdünnte Pressat kam dann auf 24 Stunden in den Eiskasten, worauf sich ein Niederschlag, bestehend zum Teile aus zertrümmerten Zellen, absetzte. Sowohl dieser Niederschlag als die darüber sich befindende klare Flüssigkeit wurden auf ihr fibrinolytisches und antifibrinolytisches Verhalten untersucht. Es zeigte sich, daß sowohl die klare Flüssigkeit als der Niederschlag die Fibrinolyse stark hemmen, der Niederschlag jedoch viel stärker. Die Hemmung ist so stark, daß ein eventueller Einwand, es handle sich hier um eine reine Serumwirkung, von vornherein ausgeschlossen erscheint. Denn abgesehen

davon, daß die hemmende Wirkung des menschlichen Serums nie so stark ist, so wurde doch durch das vorhergehende Waschen und die Auflösung im Kochsalz 0,6% eine so starke Verdünnung des Serums erzielt, daß von einer direkten Serumwirkung nicht gesprochen werden kann. Aus bestimmten theoretischen Erwägungen, auf die hier einzugehen zu weit führen würde, wurde der Preßsaft von einer Thyreoidea des Rindes in derselben Weise hergestellt wie der Preßsaft der Lunge auf sein antifibrinolytisches Vermögen untersucht. Es wurde auch hier eine starke antifibrinolytische Wirkung erzielt. Die Pressate, die aus der Niere und Leber gewonnen wurden, wirkten ebenfalls antifibrinolytisch, aber weniger stark als die Pressate der Lunge und Thyreoidea. Mit dem Pressatsaft des Herzmuskels konnte nur eine sehr schwache Hemmung erzielt werden.

Tabelle VII.

Organextrakt cem	Fibrin	Throm- bolytin	Temp.	Lösungs- mittel	24 ^h	48 ^h	3Tage	6Tage
1. Leberextrakt, nicht filtriert 1,0	Pl.-Fibr.	0,5 cem	37°	3% NaFl	—	—	+	+
2. " " filtriert " 0,5	"	0,5 cem	37°	3% "	—	+	+	+
3. " " filtriert " 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	+	+	+
4. Nierenextr., nicht filtriert 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	—
5. " " filtriert " 0,5	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	+	—
6. " " filtriert " 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	+	+	+	—
7. Thyreoideaextr., nicht filtr. 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	—
8. " " " 0,5	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	—
9. " " filtriert 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	+	—
10. Lungenextr., nicht filtriert 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	—
11. " " " 0,5	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	—
12. " " filtriert " 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	+
13. Herzmuskelextr., nicht filtr. 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	—	+	+	+
14. " " " 0,5	"	0,5 cem	37°	3% "	+	+	+	+
15. " " filtriert " 1,0	"	0,5 cem	37°	3% "	+	+	+	+
16. Thrombolytin-Kontrolle	"	0,5 cem	37°	3% "	+	+	+	+
17. —	"	0,5 cem	37°	3% "	—	—	—	+

Aus dieser Tabelle ist zu ersehen, daß Lunge und die Thyreoidea am meisten Antithrombolytin enthalten, dann folgt die Niere, dann erst die Leber und der Herzmuskel. Diese Befunde sprechen auch gegen die Annahme von Nolf, daß in der Leber ein die Autolyse hemmendes Ferment produziert wird. Denn wenn dies der Fall wäre, so müßte man erwarten, daß die Leber am meisten Antithrombolytin enthält, während sich aus obiger Tabelle ergibt, daß die Leber in bezug auf den Thrombolytinegehalt unter den Organen an vierter Stelle steht. Inwiefern die antithrombolytischen Faktoren der einzelnen Organe untereinander sowie mit dem Antithrombolytin des Pleura-exsudates übereinstimmen, sollen noch weitere Untersuchungen zeigen. Ebenso sind Untersuchungen im Zuge, welche das Verhalten des Thrombolytins zu dem von Müller⁵⁾ bereits gefundenen Hemmungs-

vermögen der entzündlichen Exsudate auf das tryptische Ferment der Leukocyten aufklären sollen.

Nachdem so das im Organismus weitverbreitete Vorkommen des antithrombolytischen Fermentes festgestellt war, wurde versucht, dasselbe aus Exsudatflüssigkeiten rein darzustellen.

Es zeigte sich, daß dasselbe durch Äther nicht extrahierbar ist, durch Alkohol oder durch Halbsättigung mit Ammonsulfat ist das Thromboligin fällbar. Bei der Dialyse passiert es den Pergamentschlauch nicht und wird erst bei Temperaturen von 60–65° zerstört. Es gehört zu den wasserlöslichen Globulinen.

Es gelang nun mittels aufeinanderfolgender Fällung mit Alkohol und Ammonsulfat und Lösung mit destilliertem Wasser zu einem verhältnismäßig reinem Produkte zu gelangen, welches die Fibrinolyse sehr stark hemmt.

Während der Darstellung des Thromboligengehalts gelang es auch, die Frage zu beantworten, woher es komme, daß die Pleuraexsudate, welche trotz wiederholter Untersuchungen immer wieder eine Hemmung der Fibrinolyse zeigten, doch zur Resorption gelangen und das Fibrin an der Pleuroberfläche sich endlich auflöst. Denn nachdem es gelungen war, den hemmenden Körper in halbwegs gereinigtem Zustande aus dem Exsudate abzuscheiden, erhielt man einen Rest, in dem unter anderen Eiweißkörpern sich auch ein stark fibrinolytischer Körper vom Charakter des Thrombolytins befand. Dieser Befund konnte auch den Umstand erklären, daß, wenn man ein Pleuraexsudat, aus dem das Fibrin durch einige Tage langes Stehen bei 0° abgeschieden wurde, eine Stunde bei 46–48° im Wasserbade inaktiviert hat, dieses inaktivierte Exsudat die Fibrinolyse stärker hemmte als das ursprüngliche nicht inaktivierte Exsudat.

Tabelle VIII.

	Throm- boly- sin	Fibrin	Temp.	Lösungs- mittel	24h	48h	3Tage	5Tage	8Tage
1. Pleuraexsud. 1,0 cem	Thrombolytin	Fibrin	37°	3% NaCl	—	—	—	—	+
2. " 1 ^h bei 46° inaktiviert	Thrombolytin	Plasmafibrin	37°	3% "	—	—	—	—	—
3. " 1 ² h " 50° "	0,2 cem	resistent,	37°	3% "	—	—	—	—	+
4. " 1 ² h " 58° "			37°	3% "	—	—	—	+	+
5. " 1 ² h " 62° "			37°	3% "	—	+	+	+	+
6. " —			37°	3% "	+	+	+	+	+
7. " —			37°	3% "	—	—	—	+	+

Zusammenfassung.

1. Es gelang, aus pleuritischen Exsudaten einen Körper darzustellen, welcher die Fibrinolyse hemmt.

2. Dieser vorläufige Thromboligin kennzeichnet sich dadurch, daß es a) durch Alkohol und Halbsättigung mit Ammonsulfat fällbar ist,

b) nicht dialysabel, c) löslich in destilliertem Wasser und bei 60–65° inaktiviert wird.

3. Dieser Körper dürfte mit dem die Fibrinolyse hemmenden Körper des Serums identisch sein, was aber bis jetzt nicht bewiesen ist.

4. Außer im Serum kommt dieser Körper auch in großer Menge in der Lunge, Schilddrüse und Niere, in mäßiger Menge in der Leber, in sehr kleiner Menge im Herzmuskel vor.

5. In den pleuritischen Exsudaten namentlich Tuberkulöser ist das Thromboligin stark vermehrt.

6. Ascitesflüssigkeiten enthalten im allgemeinen weniger Antithrombolsin.

7. Transsudate, Liquor cerebrospinalis und Ödemflüssigkeiten enthalten fast gar kein Antithrombolsin.

8. Der Thromboligengehalt des Serums variiert bei verschiedenen Menschen und bei verschiedenen pathologischen Prozessen.

9. Wird ein Pleuraexsudat bei 46–48° inaktiviert, so steigt seine antifibrinolytische Wirkung. Es konnte in den Pleuraexsudaten Tuberkulöser neben dem Thromboligin auch ein fibrinolytischer Körper nachgewiesen werden.

10. Die Fibrinolyse wird außer dem Antithrombolsin durch Chloroform, Ammonsulfat, Chlorzink und durch Säuren und Alkalien gehemmt.

11. Chloroform erzeugt eine Trübung der Thrombolsinlösung. Ammonsulfat, Chlorzink sowie Säuren und Alkalien fällen bei Gegenwart von Salzen dieselbe.

12. Ein Fibrin, das längere Zeit unter der Wasserleitung gewaschen wurde, löst sich sowohl bei der Fibrinolyse sowie bei Autolyse früher als ein genau so altes nur wenig gewaschenes Fibrin.

Literatur.

- ¹⁾ Diese Zeitschr. **112**, 13. 1920. — ²⁾ Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **10**, 275–342. 1913. — ³⁾ Zeitschr. f. Biol. **25**: Zeitschr. f. physikal. Chem. **27**. — ⁴⁾ l. c. — ⁵⁾ Arch. f. klin. Med. **91**, 291–313.

Zur Frage der Restreduktion.

Von

Malte Ljungdahl.

(Aus der Medizinischen Klinik, Lund.)

(Eingegangen am 21. Januar 1922.)

Die Frage betreffend die Restreduktion des Blutes birgt in sich zwei andere, welche die Menge sowie die Art derjenigen Stoffe, die die Restreduktion bedingen, betreffen. Diese letztgenannte Frage ist natürlich, mit Hinsicht auf die Komplexität des Blutes, schwer zu beantworten. Wahrscheinlich wird sich die Ansicht *Feigl's*¹⁾ behaupten, daß wir in erster Linie mit verschiedenen, dem Rest-N angehörigen Stoffen zu rechnen haben. Immerhin ist die ganze Frage noch im Fluß. Offenbar hängt ihre Beantwortung von der der anderen Frage ab: Wie hoch ist die Restreduktion des Blutes zu veranschlagen, oder, was ja dasselbe sagt, wieviel von der reduzierenden Kraft des Blutes rührt vom Zucker her? Und diese Frage erscheint auf den ersten Blick ziemlich leicht zu beantworten: Die Glucose läßt sich mittels Gärung leicht beseitigen, was dann an Reduktionsvermögen übrigbleibt, muß ja Restreduktion sein. Diese Erwägung ist so durchaus klar, daß man wohl ziemlich allgemein dazu gekommen ist, die Restreduktion praktisch mit dem Reduktionsvermögen des Blutes nach stattgefundener Gärung zu identifizieren, eine Vergärung des Blutes ist das allgemein übliche und außerdem fast allein mögliche Verfahren, die Größe der Restreduktion zu ermitteln.

Zwei Einwände triftigster Art und fundamentalster Bedeutung sind im Laufe der Zeit gegen dieses Verfahren erhoben worden. Zuerst stellte *Seegen*²⁾ die Forderung auf, daß man, um von einer Restreduktion sprechen zu können, erst zeigen müsse, daß, bei der Gärung, der Zucker ganz und gar zerlegt wird. So selbstverständlich dieses Postulat auch sein mag, so ist es doch nicht nur von früheren Untersuchern vernachlässigt worden, sondern man hat auch nachher mancherseits unterlassen, dieser Forderung *Seegens* die nötige Aufmerksamkeit zu widmen.

¹⁾ *Feigl*, diese Zeitschr. **77**, 193. 1916; **80**, 330. 1917.

²⁾ *Seegen*, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **37**. 1885.

Der zweite Einwand, der gegen das geläufige Verfahren, die Restreduktion mittels Hefegärung zu bestimmen, vorgebracht ist, rührt von *Neuberg*¹⁾ her und ist von *Mayer*²⁾ noch ausführlicher begründet. Er liegt in dem Nachweis, daß aus der Hefe bei der üblichen Vergärung optisch aktive und reduzierende Substanzen entstehen, die sich also zu den anderen, die Restreduktion bewirkenden Stoffen gesellen. Diese beiden Fehlerquellen hat *Ege*³⁾ in ausgiebiger Weise berücksichtigt und, soweit ich sehen kann, als erster mit Konsequenz und Erfolg zu überwinden verstanden.

Nun fragt sich aber, ob diese Einwände gegen die Auffassung, daß eine Hefegärung des Blutes eine sichere Grundlage für die Feststellung der Größe der Restreduktion gibt, die einzigen prinzipieller Natur sind, die erhoben werden können und erhoben werden müssen. Meiner Meinung nach nicht. *Es muß zuerst die Frage aufgestellt und beantwortet werden, ob die Reduktionsabnahme des Blutes während der Gärung allein von der Hefe bewirkt wird.* Wenn, wie gewöhnlich, die Vergärung in gekochten oder mit eiweißfällenden Substanzen gewonnenen *Blutauszügen* stattfindet, ist wohl diese Frage ohne weiteres zu bejahen, natürlich unter der Voraussetzung, daß auf die nötigen aseptischen Kautelen geachtet wird. Anders aber, wenn man, wie *Ege* es vorgeschlagen hat, direkt im Blut vergärt.

Seit *Claude Bernard* wissen wir ja, daß beim Stehenlassen des Blutes, ohne Hefe, Blutzucker zerstört, oder sagen wir vorsichtiger, in der Weise verändert wird, daß er sich unseren gewöhnlichen Bestimmungsmethoden entzieht. Dies steht wohl jetzt als eine allgemein anerkannte Tatsache da. Und zwar findet man diese Abnahme, die man als „Glykolyse“ auffaßt und bezeichnet, unter sehr verschiedenen Versuchsbedingungen. Ich habe z. B. eine solche Zuckerabnahme in defibriertem Blut, in Oxalat- wie in Citrat- und Sulfatplasma, ja sogar in dem von einem Filtrierpapier nach *Bang* aufgesogenen Blute gesehen, und dies bei einer Temperatur von 30 wie von 40°.

Um die Intensität dieser spontanen Zuckerzerstörung mit der bei der Hefegärung des Blutes vergleichen zu können, sei das Resultat einiger Versuche angeführt, bei welchen die Versuchstechnik dieselbe war wie bei den Untersuchungen *Eges*. Nur wurde ja in meinen Versuchen keine Hefe zugesetzt. — Das Blut (von gesunden Menschen) wurde in sterilen Proberröhrchen aufgefangen, durch Zugabe von Am-Oxalat bzw. durch Defibrinierung (mittels Schüttelns mit Glas-kügelchen) flüssig gemacht, mit Toluol versetzt und bei 36° aufbewahrt.

¹⁾ *Neuberg*, diese Zeitschr. **24**, 423. 1910.

²⁾ *Mayer*, diese Zeitschr. **50**, 362. 1913.

³⁾ *Ege*, Studier over glykosens Fordeling. Kopenhagen 1919. Derselbe, diese Zeitschr. **107**, 229. 1920.

Bei aus der Tabelle ersichtlichen Zeiten wurde der Zuckergehalt, nach dem letzten Verfahren *Bangs*, bestimmt.

Tabelle I.

Nr.	Blut	Blutzucker % nach			
		5 Minuten	2 Stunden	7 Stunden	24 Stunden
1	Defibriniert	0,121	0,103	0,081	0,041
2	"	0,072	0,063	0,045	0,032
3	"	0,091	0,079	0,051	—
4	"	0,113	—	0,078	0,047
5	Oxalat	0,111	0,100	—	0,098
6	"	0,060	0,040	0,025	—
7	"	0,082	0,075	0,071	0,064
8	"	0,095	—	0,085	0,055

Die für den beabsichtigten Vergleich in Betracht kommenden Resultate der Gärungsversuche *Eges* sind:

Tabelle II.

Nr.	Blut	Blutzucker % nach			
		1/2 Stunde	2 Stunden	20 Stunden	48 Stunden
1	Defibriniert	0,035	0,0028	0,0024	—
2	Oxalat	—	—	0,0041	0,0022

Wir können also in sämtlichen von mir vorgelegten Versuchen eine Verminderung des Blutzuckers konstatieren, und diese Verminderung ist ohne Hefezusatz vor sich gegangen. Daß nun diese dem Blute selbst beiwohnende zuckerzerstörende Kraft in Versuchen wie den von *Ege* mit der Hefe zusammenwirkt, ist ersichtlich. Auch zeigen die mitgeteilten Werte, daß bei dieser Zusammenwirkung die Leistungen dieser dem Blute eigenen Kraft rein quantitativ als relativ bedeutend angesehen werden müssen.

Zu einem gewissen Grade ist also die Abnahme der reduzierenden Stoffe des Blutes während der Hefegärung von der Hefe unabhängig, und somit ist es nicht bewiesen, daß diese Abnahme ausschließlich auf einem Schwund des Zuckers beruht. Gewiß faßt man die spontane Verminderung des Reduktionsvermögens des Blutes als eine „Glykolyse“ auf oder nennt sie wenigstens so, und dieser geläufigen Redeweise gemäß habe auch ich sie hier mehrfach mit gleichbedeutenden Ausdrücken bezeichnet. Aber es ist von dieser „Glykolyse“ noch nicht der zwingende Beweis erbracht, weder daß sie eine „Lysis“ ist, noch daß sie nur die Glucose umfaßt. Es ist gar nicht unmöglich, daß auch der Restreduktion angehörige Stoffe bei der Digestion des Blutes in der Weise verändert oder gebunden werden, daß sie sich der späteren Bestimmung entziehen.

Gerade für diese Frage betreffend die Rolle der spontanen Glykolyse bei der Hefegärung des Blutes verdienen zwei Angaben *Eges* ein besonderes Interesse. Erstens hat er gefunden, daß die Gärung in Oxalatblut etwas langsamer vor sich geht als in defibriniertem Blut. Nun wissen wir durch Untersuchungen von *Lépine* u. a., daß die Oxalate gerade auf die spontane Glykolyse einen bedeutend hemmenden Einfluß ausüben. Diese Hemmung tritt ja auch in den von mir hier vorgelegten Versuchen deutlich hervor. Es liegt also nahe, die von *Ege* beobachtete Verzögerung der Gärung im Oxalatblut wenigstens zu einem gewissen Teil als eine Hemmung der spontanen Glykolyse aufzufassen. In ähnlicher Weise läßt sich eine zweite Beobachtung desselben Autors ungezwungen erklären, die nämlich, daß eine kleine Menge eines Fluorsalzes die Gärung im Blute sehr beeinträchtigt, denn die spontane Glykolyse soll von diesen Substanzen völlig verhindert werden.

Zur Kenntnis des Metacholesterins und seiner Nebenprodukte.

III. Mitteilung¹⁾.

Von

I. Lifschütz (Hamburg).

(Eingegangen am 21. Januar 1922.)

Bevor ich zur Wiedergabe weiterer Erfahrungen hinsichtlich neuerer Herstellungsweisen und der Natur dieser neuen Cholesterinform schreite, sei es mir gestattet, einige ergänzende Bemerkungen zum bereits bekanntgegebenen²⁾ *künstlichen* Herstellungsverfahren des Körpers durch Einwirkung von Benzoylsuperoxyd auf Cholesterin in spirituöser Lösung voranzuschicken.

Nach zahlreichen seither vorgenommenen Versuchen hat sich bei diesem Verfahren *absoluter Alkohol* als Lösungsmittel für das zu bearbeitende Cholesterin wesentlich besser bewährt als wasserhaltiger Spiritus. Bei einer 1-stündigen Kochung des Cholesterins mit dem Peroxyd, selbst in 95 proz. Spiritus, pflegt nämlich ein erheblicher Teil des Cholesterins der Reaktion zu entgehen. Eine längere Kochdauer ist jedoch nicht ratsam, weil dabei das Metacholesterin einer weiteren Veränderung zu unterliegen scheint; wenigstens büßt es dabei wesentlich an seiner bereits erörterten³⁾ und auch weiter unten zu erwähnenden Hydrophilie ein. Ferner muß der Alkohol säurefrei, sowie frei von sonstigen Verunreinigungen sein, die der absolute Alkohol des Handels häufig zu enthalten pflegt. Es ist daher zweckdienlich, den Alkohol vor der Verwendung über Natronkalk am Thermometer abzudestillieren und nur die Fraktion vom richtigen und konstanten Siedepunkt des Äthylalkohols zu verwenden. Enthält dieser noch Spuren von Säure, so muß er mit einigen Tropfen n_{10} -alkoholischer Kalilauge neutralisiert werden.

Sodann muß das zu verwendende Benzoylsuperoxyd möglichst frei von Benzoesäure und sonstigen Verunreinigungen sein. Es empfiehlt

¹⁾ I. Diese Zeitschr. **83**, 18ff. 1917. II. Zeitschr. f. physiol. Chemie **106**, 284 u. 286ff. 1919.

²⁾ Dasselbst **106**, 286 u. 287. 1919.

³⁾ Dasselbst **114**, 120 u. 121ff. 1921.

sich daher, für diesen Zweck nur die *farblosen* und durchsichtigen (nicht verwitterten) Krystalle des Präparates zu verwenden¹⁾.

Mit Rücksicht auf eine Reihe weiterer Erfahrungen und neuerer Entstehungsarten des *Metacholesterins* bzw. für etwaige Nachprüfungen des Körpers möge hier sein bereits bekanntes und als recht handlich bewährtes Herstellungsverfahren etwas eingehender angeführt werden.

I. Herstellung des Metacholesterins auf nassem Wege.

1,0 g Cholesterin (aus Eieröl) wird unter Beachtung obiger Regeln mit 1,0 g Benzoylsuperoxyd in 50 ccm absolutem Alkohol 1 Stunde gekocht. Hierauf wird zum Gemisch 1 ccm 50 proz. Kalilauge zugesetzt, es 10 Minuten weitergekocht, mit etwa dem gleichen Volumen Wasser verdünnt und mit Äther ausgeschüttelt. Das neutral ausgewaschene Ätherextrakt, das ja eine erhebliche Menge wässrigen Alkohols enthält, wird in einer Glasschale bis zur Beseitigung des Äthers auf dem Wasserbade gelinde erwärmt. Fängt die Lösung dann an stark, milchig trübe zu werden, so wird die Trübung mit möglichst wenig Alkohol beseitigt und die Schale unter Uhrglasbedeckung an einem kühlen Orte einige Stunden stehen gelassen. Die Lösung erstarrt dann zu einem ziemlich steifen Brei von großen glänzenden Schuppen des Metacholesterins, die, abfiltriert, mit 90 proz. Alkohol nachgewaschen, abgesaugt und getrocknet, 75–80% vom Cholesterin betragen.

Die Hydrophille des Metacholesterins in seinen Mischungen mit wasserfeindlichen Fetten

ist eine seiner hervorstechendsten und charakteristischsten Eigenschaften. Ihre Ermittlung und Feststellung in zu untersuchenden Lipoiden habe ich in einer der letzlich erschienenen Arbeiten angegeben und näher erörtert²⁾. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß diese Eigenschaft ein vortreffliches Merkmal abgibt, womit das Metacholesterin in *natürlichen Lipoidstoffen* nachgewiesen werden kann. Nimmt das Unverseifbare derselben in 2 proz. Verschmelzung mit *reinem weißen Vaseline* mehr als 40% vom Gewicht der Mischung an Wasser auf, so ist sicherlich Metacholesterin in größerer oder geringerer Menge zugegen.

Läßt man nun das wässerig-alkoholische Filtrat vom obigen Metacholesterin im Bechergläschen längere Zeit stehen, so trübt es sich allmählich und scheidet nach und nach kleine weiße Kryställchen ab, die mit etwas Spiritus angerührt und auf einen Objektträger unter ein Deckplättchen gebracht — bei starker mikroskopischer Vergrößerung — derbe Krystallaggregate mit schraffierten Oberflächen darstellen. Zer-

¹⁾ Ein sehr reines Benzoylsuperoxyd in großen schönen Oktaedern liefert C. A. F. Kahlbaum, Berlin. Die pulvrigen technischen Peroxyde anderer Firmen sind für diesen Zweck nicht zu verwenden.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **114**, 108–126. 1921.

reibt man sie vorsichtig auf dem Objektträger mit dem Deckgläschen, so lösen sie sich in winzige, flache, rundlich zugespitzte Nadelchen, mitunter auch in ebensolche mehr oder minder breite Blättchen auf. Metacholesterinschuppen treten im mikroskopischen Bilde entweder gar nicht oder nur selten auf. Am klarsten und charakteristischsten tritt das mikroskopische Bild hervor nach dem Eintrocknen des Präparats auf dem Objektträger. Nach dem Umkrystallisieren der Substanz aus stark wasserhaltigem Alkohol erscheinen die Kryställchen unter starker Vergrößerung als die erwähnten Blättchen in noch prägnanterer Weise. Infolge ihrer sehr leichten Löslichkeit scheidet sich die neue Substanz zunächst schleimig und mit dem amorphen Oxycholesterin stark vermenget aus, so daß es mir bislang noch nicht gelungen ist, sie in weiter zu charakterisierendem Zustande zu erhalten. Soviel habe ich jedoch ihrer Löslichkeit und Reaktionen nach feststellen können, daß sie weder unverändertes Cholesterin noch Metacholesterin ist. Dem mikroskopischen Bilde und der leichten Löslichkeit in Alkohol nach (selbst in stark wässrigem) könnte die Substanz vielleicht das *Cholesterinoxid* von Th. Westphalen sein (B. 48, 1064).

Das Filtrat, von dieser Substanz eingedampft, hinterläßt das bekannte amorphe und harzartige Oxycholesterin, das 15–20% vom angewendeten Cholesterin beträgt.

II. Herstellung von Metacholesterin auf trockenem Wege.

Erhitzt man eigentliches (rhombisches) Cholesterin im Ölbad auf ca. 148–150° C, so tritt anfänglich eine ziemlich rege Gasentwicklung ein, die aber nach und nach schwächer wird, während die ursprünglich fast farblose Schmelze eine immer dunkler werdende bräunlichgelbe Farbe annimmt. Nach etwa 35–40 Minuten steigen nur noch einzelne Bläschen in der Schmelze auf. Hier wurde bei den ersten Versuchen zunächst das Erhitzen unterbrochen. Beim Erkalten erstarrte die Masse bei etwa 115–112° zu einem hellgelben großblättrigen Krystallkuchen, der, in 90 proz. Alkohol gelöst, nach dem Erkalten — neben kleineren Mengen unveränderten (rhombischen) Cholesterins — fast durchweg die elliptischen Metacholesterinschuppen ergab. Diese betrug 65% vom angewendeten Cholesterin. Ihre Hydrophilie in der oben angegebenen Vaseline Mischung (mit reinem weißen Vaseline) betrug 500% von der Fettmischung an Wasseraufnahme. Variierungen der Temperatur und der Schmelzdauer haben bislang bessere Resultate nicht ergeben.

Aus den restierenden ca. 35%, die nach dem Abfiltrieren des Metacholesterins im spirituösen Filtrat verbleiben, konnte nur noch eine kleine Menge krystallinischen Metacholesterins isoliert werden¹⁾; der

¹⁾ Die oben unter I angegebene mikrokrySTALLINISCHE Substanz habe ich bei diesem Verfahren im Filtrat bislang nicht beobachtet.

überwiegende Rest ist amorphes Oxycholesterin, der freilich auch weitere amorphe Cholesterinoxydate enthält.

Recht bemerkenswert an diesen letzteren Cholesterinstoffen ist, daß sie für sich *keine* Essigschwefelsäurereaktion des Oxycholesterins geben; wohl aber — nach ihrer Oxydation mit Benzoylsuperoxyd in Eisessiglösung auf Zusatz von einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure. Führt man daher die gewöhnliche *Oxycholesterinreaktion* mit dem hier roh aus den Mutterlaugen nach Beseitigung des Lösungsmittels gewonnenen amorphen Rückstand aus und schüttelt das stark farbige Reaktionsgemisch mit Chloroform durch, so geht fast der gesamte Farbstoff nebst seinen bekannten Spektralabsorptionen nach der Klärung des Gemisches, wie beim gewöhnlichen Oxycholesterin, in die *obere Schicht*, während die untere Schicht nur schwach gefärbt ist und somit höchstens nur geringe Mengen eines anderen Oxycholesterinderivats anzeigt. Kocht man dagegen jenen Rückstand zunächst in Eisessiglösung mit etwas Benzoperoxyd 1–2 mal auf und versetzt *nun* das rasch abgekühlte Gemisch mit einigen Tropfen konzentrierter Schwefelsäure, so erhält man eine wesentlich intensivere Farbreaktion als vor dieser Oxydation. Diese Verstärkung rührt nur zum geringen Teil von kleinen, im amorphen Rückstand noch verbliebenen kristallinen Cholesterinstoff her; der allergrößte Teil aber zeigt jene weiteren *Cholesterinoxydate* an, die für sich (vor ihrer Oxydation mit dem Peroxyd) die Essigschwefelsäurereaktion nicht geben¹⁾. Schüttelt man dieses farbige Reaktionsgemisch mit etwas Chloroform durch, so erscheint nunmehr — nach der Klärung — der größte Teil des Farbstoffes mit seinen Spektralabsorptionen in der *Unterschicht* des Gemisches, während die Oberschicht wesentlich schwächer gefärbt ist.

Diese Erscheinung der Essigschwefelsäurereaktion in der Unterschicht erst *nach der Oxydation* des betreffenden Reaktionsobjektes kommt, wie nachgewiesen²⁾, nur den Gallensäuren resp. den Cholesterinoxydaten³⁾ zu, die ich dort als Glieder in der Kette der Abbauprodukte des Cholesterins bezeichnete, welche dieses mit den Gallensäuren verbindet und die ich vor einigen Jahren neben dem Leberfettcholesterin des Hundes nachgewiesen hatte⁴⁾. Wie die ersten zwei natürlichen

¹⁾ Im Gegensatz zur „direkten“ Essigschwefelsäurereaktion, welche die Cholesterinoxydate an und für sich (ohne vorangehende Oxydation) geben, sei dieselbe Reaktion, die erst *nach der Oxydation* der betreffenden Cholesterinstoffe an diesen hervorgerufen werden kann, als „*latente Oxycholesterin-Reaktion*“ bezeichnet. (Vgl. „Abbauprod. des Cholesterins usw.“ X. Mitteilung, Zeitschr. f. physiol. Chem. **111**, 209, Anm. 2. 1921).

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **91**, 318–356. 1914 u. a. a. O.

³⁾ Den sogenannten „natürlichen Begleitstoffen“ des Cholesterins.

⁴⁾ Siehe daselbst; sowie **92**, 395ff. 1914. „Zur Kenntnis der Oxycholesterinreaktion der Gallensäuren“.

Umwandlungsprodukte des Cholesterins, das Metacholesterin und das Oxycholesterin der tierischen Organe, gelingt es demnach auch, die weiteren Abbauprodukte des Cholesterins, die fraglos zu den Gallensäuren führen, auch künstlich herzustellen und sie mit den natürlichen qualitativ zu identifizieren. Dies ergibt sich auch aus folgenden Feststellungen an den in Rede stehenden künstlichen Oxydationsprodukten des Cholesterins.

Die künstlichen Begleitstoffe des Cholesterins.

Um zu ermitteln, ob auch hier die am Unverseifbaren (Alkoholen) des *Rinderblutfettes* beobachteten Begleitstoffe des Cholesterins¹⁾ entstehen, die mit Digitonin *keine* Doppelverbindungen geben, wurde folgendermaßen verfahren:

Der vom Krystallcholesterin durch Abfiltrieren getrennte, im alkoholischen Filtrat verbliebene amorphe oxycholesterinartige Teil des Reaktionsproduktes wurde nach dem zweckentsprechenden Verdünnen des Filtrats mit 90 proz. Alkohol mit einer 2 proz. alkoholischen Digitoninlösung solange in der Wärme versetzt, bis eine Probe des erkalteten Gemisches — vom ausgefällten Digitonid abfiltriert — mit Digitoninlösung keine, mit Cholesterinlösung aber eine deutliche Trübung gab. Der Digitonidniederschlag wurde nach einigen Stunden abfiltriert und mit Spiritus bis zum Verschwinden des überschüssigen Digitonins aus dem Filtrat ausgewaschen. Das nach dem Trocknen an der Luft mattpulvrige Digitonid betrug noch keine 10% von der zur Fällung verwendeten amorphen Substanz. Es wurde in wenig Eisessig bei gelinder Wärme gelöst und mit etwa dem doppelten Volumen 90 proz. Alkohols verdünnt. Nach längerem Stehen in der Kälte schied es sich in glänzenden Kryställchen fast vollständig wieder aus. Ein Tropfen des Krystallbreies, zwischen Objektträger und Deckplättchen gebracht, zeigte — namentlich nach dem Eintrocknen des Präparats *bei Zimmertemperatur* — unter starker Vergrößerung die Krystallformen des Metacholesterin- resp. des Cholesterindigitonids²⁾; letzteres in nur geringer Menge. Es sind demnach, wie schon hieraus ersichtlich, nur die Krystallcholesterine mit Digitonin ausgefallen, nicht aber die amorphen Cholesterinoxydate. In der Tat gab das aus Eisessig-Alkohol umkrystallisierte Digitonid zwar eine starke Cholestolreaktion³⁾ (nach *Liebermann*); aber keine Oxycholesterinreaktion mit Essigschwefelsäure. *Der gesamte amorphe Teil* (Cholesterinoxydate) ist also *mit Digitonin nicht ausgefallen*; sondern im spirituösen Digitonidfiltrat gelöst geblieben.

¹⁾ Siehe „Abbauprodukte des Cholesterins usw.“ X. Mitteilung: Zeitschr. f. physiol. Chem. **117**, 206 ff. 1921.

²⁾ Siehe daselbst S. 205.

³⁾ In Eisessiglösung unter Verdünnung mit Acetanhydrid, da es in diesem nur sehr schwer löslich ist.

Um zu erfahren, ob dieses Filtrat die Cholesterinoxydate als *freie Substanzen* oder etwa als alkohollösliche Digitonide enthält, wurde es mit Wasser stark verdünnt und die dadurch entstandene Emulsion unter Zusatz von einigen Tropfen Salzsäure mit Äther tüchtig ausgeschüttelt. Das Gemisch trennte sich leicht in zwei *völlig klare Schichten*; der *gesamte Rest* der für die Digitoninfällung verwendeten amorphen Cholesterinstoffe ging mit gelber Farbe in die ätherische Lösung über, während die wässrige Unterschicht nur das überschüssige Digitonin gelöst enthielt. Die hiervon getrennte, mit alkoholhaltigem Wasser gut ausgewaschene ätherische Lösung ergab den allergrößten Teil der zur Fällung gelangten amorphen Substanz wieder, und zwar in *freiem* Zustande mit allen ihren Eigenschaften, Farb- und Spektralreaktionen und Löslichkeitsvermögen. Ausgefallen sind also mit Digitonin tatsächlich nur kleine Beimengungen der Krystallcholesterine (Cholesterin und Metacholesterin), während die gesamten amorphen Cholesterinoxydate dem Digitonin *vollständig* entgangen sind.

Über die Natur dieser beim Erhitzen des trocknen Cholesterins neben dem krystallinischen Metacholesterin entstandenen amorphen Begleitstoffe geben — außer der obigen negativen Digitoninreaktion — ihre sehr intensiven oben erörterten Oxycholesterinreaktionen mit Essigschwefelsäure einige Aufklärung.

Eigentliches Oxycholesterin, wie man es durch Oxydation des Cholesterins erhält und seinerzeit (auch als Digitonid) zur Elementaranalyse usw. gelangte¹⁾, konnte hier nicht zugegen gewesen sein. Denn: erstens ist dieses mit Digitonin zum größten Teil fällbar; das obige Digitonidgemisch gab jedoch, wie erwähnt, *keine Oxycholesterinreaktion* mit Essigschwefelsäure. Im Niederschlag war also Oxycholesterin nicht zugegen. Wäre ferner im obigen Verfahren selbst nur kleine Mengen davon entstanden, die bei der Fällung mit Digitonin aus alkoholischer Lösung als Digitonid etwa im *Filtrat* gelöst geblieben wären, so müßte es, da es als solches in Wasser und Äther unlöslich ist, beim obigen Behandeln des Digitonidfiltrats mit Wasser und Äther als ungelöstes Pulver zwischen den beiden *klaren* Schichten zum Vorschein gekommen sein²⁾. Da aber hier auch dies, wie oben ausgeführt, nicht der Fall war, so ist die Gegenwart von *eentlichem Oxycholesterin* im gesamten Produkt fraglos ausgeschlossen. Im übrigen gibt, wie bereits hervorgehoben, der amorphe Teil des in Rede stehenden Umwandlungsproduktes des Cholesterins, der insgesamt keine Digitonide liefert, die Oxycholesterinreaktion mit Essigschwefelsäure mit großer Intensität in Farbe und Absorptions-

¹⁾ Siehe B. 47, 1453 u. 1457. 1914 u. a. a. O.

²⁾ Wie dies ja z. B. bei den Begleitstoffen des *Blutcholesterins* der Fall ist. (Siehe: „Abbauprodukte des Cholesterins usw.“ X. Mitteilung, Zeitschr. f. physiol. Chem. 117, 207. 1921.)

spektren, die aber (nach dem Behandeln des Reaktionsgemisches mit Chloroform) sich ebenso verhalten, wie die der natürlichen Begleitstoffe des *Blutcholesterins*, welche ja gleichfalls mit Digitonin keine Verbindungen eingehen¹⁾. Allerdings fehlten hier die dort nachgewiesenen Mono- und Dioxycholesterine; die aber auch bereits künstlich dargestellt worden sind²⁾.

Demnach besitzen wir in dem durch Erhitzen des reinen Cholesterins erzielten Reaktionsprodukt ein interessantes *künstliches* Analogon zum komplizierten *natürlichen* unverseifbaren (alkoholartigen) Teil des Blutfettes. Hier wie dort besteht der krystallinische Teil überwiegend aus Metacholesterin und nur zum kleineren Teil aus Cholesterin³⁾. In beiden Fällen finden wir, daß diese krystallinischen Cholesterine, die bekannten scharfen Farbreaktionen und unlösliche Doppelverbindungen mit Digitonin geben und von amorphen Körpern begleitet werden, die zum Teil diese Merkmale nicht mehr aufweisen. Diese besitzen aber mindestens *eine* scharfe und charakteristische Reaktion, die ihren Cholesterinursprung nicht verkennen läßt. Es ist dies die oben S. 118 angedeutete zwar „*latente*“ *Oxycholesterinreaktion*, die aber (wie z. B. bei der Cholsäure)⁴⁾ nach der Oxydation dieser Körper mit Benzoylsuperoxyd in Eisessiglösung durch einige Tropfen konzentrierter Schwefelsäure leicht hervorgerufen werden kann. Die in unserem künstlichen Reaktionsprodukt etwa noch fehlenden, unter den natürlichen neutralen Blutfettstoffen sich vorfindenden Körper, charakterisieren sich in diesen tierischen Lipoiden schon durch *direkte* Reaktionen als Cholesterinabkömmlinge. Demnach und da die in Rede stehenden natürlichen Begleitstoffe des Cholesterins, wie dargetan, sich auch künstlich durch Oxydation des reinen Cholesterins darstellen lassen, stellt sich die wiederholt ausgesprochene Anschauung als wohlbegründete Regel dar: Daß nämlich die bis dahin recht problematischen Begleitstoffe des tierischen Cholesterins nichts anderes als durch Oxydation entstandene Abbauprodukte des letzten sind.

Was nun die beim obigen Erhitzen des Cholesterins entweichenden Gasbläschen betrifft, so können sie entweder vom entweichenden Krystallwasser oder von den beim Abbau des Körpers entstehenden gasförmigen Produkten herrühren, deren Natur bei der weiteren Untersuchung ermittelt werden soll. Ferner soll festgestellt werden, ob die dabei

¹⁾ Siehe daselbst S. 207.

²⁾ Vgl. B. **47**, 1543. 1914; u. Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 295. 1919.

³⁾ Bei den anhaltend wechselnden Mengenverhältnissen der Blutfettalkohole in der Blutbahn findet man mitunter auch das umgekehrte Verhältnis zwischen diesen Cholesterinarten. (Hierüber siehe: „Zur Kenntnis der Natur des Blutfettes und seiner Wandlungen.“ Zeitschr. f. physiol. Chem. **117**, 213ff. 1921.

⁴⁾ Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chemie **91**, 322, u. **92**, 383ff. 1914.

fraglos stattfindende Oxydation des Cholesterins durch Einwirkung der Luft oder etwa durch freiwerdenden Sauerstoff des Cholesterins selber hervorgerufen wird.

III. Entstehung des Metacholesterins durch Bestrahlung des Cholesterins.

Gelegentlich einer Mitteilung „Über die Oxydation des Cholesterins¹⁾“ erwähnte ich eine Beobachtung von *E. Schulze* und *Winterstein*²⁾, wonach „das Cholesterin nach langem Lagern durch *Licht und Luft* Veränderungen im Schmelzpunkt und Löslichkeit erlitten hatte“. Ich zweifelte damals schon nicht daran, daß da eine Oxydation des Cholesterins zu Oxycholesterin usw. vor sich gegangen sein mußte, was mir *Schulze* unter Zusendung zweier Pröbchen seines veränderten Cholesterins auch brieflich bestätigte. Diese Präparate reagierten tatsächlich sehr stark auf Essigschwefelsäure und enthielten auch dementsprechend bedeutende Mengen Oxycholesterin. Da ich diese Präparate noch besitze, so habe ich sie neuerdings einer wiederholten Untersuchung unterzogen. Diese ergab im krystallinen Teil *durchweg* die *Metacholesterinschuppen* und in dem erheblichen amorphen Teil — die oben erörterten Oxycholesterine.

Nach den obigen *Schulzeschen* Mitteilungen vom 14. VI. 1906 hat das ursprünglich eigentliche (rhombische) reine Cholesterin durch *viele Jahre* im Präparatenglase (wohl am *zerstreuten* Sonnenlicht) gelagert, bevor ihm die Umwandlung des Präparates aufgefallen war und zur Untersuchung gelangte. Vorauszusehen war, daß mit der Oxydation des Cholesterins naturgemäß eine *Gewichtszunahme* des Körpers stattgefunden haben mußte, die man am *direkten* Sonnenlicht in kürzerer Zeit würde vielleicht wahrnehmen und fixieren können. Dies bestätigte sich auch durch folgenden

Versuch 1: Angesetzt am 10. IX. 1906, abgebrochen am 27. VII. 1908. 265,6 mg reinen Cholesterins wurden auf einem genau gewogenen Uhrglas in möglichst dünner Schicht ausgebreitet und im Exsiccator über CaCl_2 mit einer passenden flachen Glasschale lose überstülpt. Der am Deckel tubulierte Exsiccator wurde mit einem mit Natronkalk gefüllten an den Enden verengt offenen Glasrohr versehen, so daß nur trockene und reine Luft in das Innere gelangen konnte und auf einem nach Süden gelegenen, sonnenreichen Fensterbrett aufgestellt. Von Zeit zu Zeit wurde das Uhrglas mit der Cholesterinschicht genau gewogen, wobei tatsächlich eine fortwährende — wenn auch sehr langsame — Gewichtszunahme festgestellt werden konnte. Nach der oben angegebenen Belichtungsdauer von rund 21 Monaten wog die Substanz 299,2 mg und hatte somit $33,6 \text{ mg} = 12,65\%$ vom ursprünglichen Cholesterin an Gewicht zugenommen³⁾.

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **50**, 439. 1907.

²⁾ Daselbst **43**, 316. 1904.

³⁾ Diese Gewichtszunahme ist indes eine nur scheinbare; in Wirklichkeit ist sie wesentlich höher. Und zwar: um das Krystallwasser des Cholesterins, das ja bekanntlich in trockener Luft zu verwittern pflegt. Wie weiter unten (Versuch 2) nachgewiesen wird, ist die größte Menge des Cholesterins in seine amorphen Oxydate übergegangen, die *wasserfrei* sind.

Das schneeweiß gewesene Cholesterin war nunmehr goldgelb gefärbt, reagierte scharf auf *Oxycholesterin* mit *Essigschwefelsäure*, löste sich sehr leicht in Äthyl- resp. in Methylalkohol aber nur teilweise in Vaseline und besaß keinen scharfen Schmelzpunkt mehr. Jedenfalls lag dieser etwa 10–15° C tiefer als der des ursprünglichen Cholesterins.

Soweit — die älteren Feststellungen nach Aufzeichnungen aus den Jahren 1906–1908.

Die seither verflossenen 13 Jahre brachten eine Reihe weiterer Erfahrungen auf diesem Gebiete, die neue Gesichtspunkte haben gewinnen lassen und die mich zur Wiederaufnahme der Belichtungsversuche anregten.

Diese Versuche sind mit reinem Cholesterin der Firma *J. D. Riedel*, Berlin, das — nach einer Mitteilung derselben — aus Eidotttern gewonnen wurde, vorgenommen worden. Das schneeweiße Präparat, als Alkohol auskrystallisiert, zeigte unter dem Mikroskop die bekannten rhombischen Tafeln, reagierte nicht mit Essigschwefelsäure auf *Oxycholesterin*, löste sich in Vaseline nur schwer und nicht restlos auf und ergab — zu 2% mit reinem weißen Vaseline verschmolzen — eine Wasseraufnahmefähigkeit (*Hydrophilie*) von nur 30 Teilen Wasser auf 100 Teile der Fettmischung.

Versuch 2: Belichtung des Cholesterins in Lösung. Angesetzt am 4. IV. 1921. Abgebrochen am 1. X. 1921.

Eine 1 proz. alkoholische Cholesterinlösung wurde im Gläschen unter loser Bedeckung mit einem überstülpten Glässchälchen auf dem sonnenreichen flachen Laboratoriumsdach der Belichtung im Freien ausgesetzt. Nach und nach verdunstete der Alkohol unter Abscheidung großer schuppenförmiger glänzender Blättchen von Metacholesterin, die — nach dem gänzlichen Eintrocknen — ein lockeres gelbliches Gewebe bildeten. Am Ende des obigen Zeitabschnittes waren die Krystalle — namentlich an den dem Sonnenlicht zugänglicheren Stellen — stark goldgelb gefärbt. Sie wurden zu 4% in heißem Methylalkohol gelöst. Im Gegensatz zum ursprünglichen Cholesterin, das sich in dieser Konzentration nach dem Erkalten zu etwa 80–90% wieder auszuscheiden pflegt, hat sich hier vom belichteten Präparat nichts abgeschieden. Die Lösung wurde daher in der Wärme mit Wasser bis zur schwachen Trübung versetzt, so daß sie nur zirka 70 proz. Methylalkohol enthielt. Aber auch aus diesem stark wässrigen Mittel schied sich nur langsam und nach längerem Stehen in der Kälte eine geringe Menge feinkristallinischen Metacholesterins ab, das nach dem Abfiltrieren und Trocknen nur 15%, vom aufgelösten Cholesterinstoff betrug. Nach Beseitigung des Lösungsmittels ergab das Filtrat als Rückstand amorphe, harzartige Cholesterinoxide, die in Eisessiglösung auf Zusatz von einigen Tropfen konz. Schwefelsäure eine starke *Oxycholesterin*-Reaktion gaben.

Der amorphe Rückstand wurde — um ihn auf seine etwaige Fällbarkeit mit Digitonin zu prüfen — in spirituöser Lösung mit alkoholischer Digitoninlösung (im Überschuß) versetzt, wobei eine nur kleine Menge Metacholesterindigitonids ausgefallen war, das von geringen Beimengungen Metacholesterins im obigen amorphen Rückstand herrührte. Nach dem Abfiltrieren des Digitonidniederschlags wurde das Filtrat stark mit Wasser verdünnt, die entstandene Emulsion mit einigen Tropfen Salzsäure versetzt und mit Äther ausgeschüttelt, wobei die gesamten amorphen Cholesterinstoffe in die Ätherlösung übergegangen sind und nach

Beseitigung des Äthers in ihrer *ursprünglichen Form unverändert* wiedergewonnen werden konnten.

Hieraus ergibt sich, daß 1. in der relativ kurzen Belichtungsdauer von 6 Monaten dieses an direktem Sonnenlicht sehr reichen Sommers etwa 80—85% des Cholesterins in seine Oxydate übergegangen sind; und daß 2. diese Oxydate — im Gegensatz zum eigentlichen Oxycholesterin¹⁾ — mit Digitonin *keine Doppelverbindung* eingeht.

Daß dieses Oxydationsprodukt keine einheitliche Verbindung ist, sondern mindestens zwei verschiedene Cholesterinoxide enthält, folgt aus dem Verhalten seines stark farbigen Essigschwefelsäurereaktionsgemisches zu Chloroform. Versetzt man nämlich das Gemisch mit Chloroform, bis eine Trübung eintritt und schüttelt es tüchtig durch, so trennt es sich in zwei klare farbige Schichten, von denen die untere womöglich noch stärker gefärbt ist als die obere. Beide Schichten zeigen gleichartig die Absorptionsspektren der bekannten Oxycholesterinreaktion. Während aber bei gleicher Behandlung der letzteren, die Reaktionsfarbe, wie oben bereits angegeben, *quantitativ* in die *Oberschicht* zu gehen pflegt, geht in vorliegendem Falle ein großer Teil des farbigen Reaktionsproduktes in die *Unterschicht*. Daß selbst die Reaktionsfarbe der Oberschicht nicht von eigentlichem Oxycholesterin herrühren kann, folgt daraus, daß die obige *gesamte* amorphe Substanz, wie nachgewiesen, mit Digitonin sich nicht verbindet, was beim Oxycholesterin doch der Fall ist²⁾.

Wir stoßen also auch hier auf dieselbe *künstlich* hervorgerufene Erscheinung, wie sie oben im Abschnitt II (S. 118—121) erörtert und mit der ihr korrespondierenden, an den *natürlichen* amorphen Begleitstoffen des Blutcholesterins und des Lebercholesterins, sowie mit der an der oxydierten Cholsäure festgestellten Erscheinung verglichen wurde³⁾.

Die „latente“ Oxycholesterinreaktion hat hier einen nennenswerten Effekt nicht hervorgerufen; zumal das Metacholesterin, das ja diese „latente“ Reaktion gleichfalls gibt, von den amorphen Oxydaten als Digitonid abgetrennt worden war.

Das oben erwähnte, aus dem wässrigen Methylalkohol auskristallisierte Metacholesterin, wurde in 90proz. Spiritus gelöst; es krystallisierte aber daraus erst nach Zusatz einer weiteren erheblichen Menge Wassers zur wieder aufgekochten Lösung (nach dem Erkalten), in kleinen weißen Kryställchen. Unter etwa 700-facher mikroskopischer Vergrößerung erscheinen diese — in für diesen Körper nachgerade typischer Form — als schöne große längliche Schuppen, die von zwei elliptisch gebogenen, nach unten und oben in spitzem Winkel sich schneidenden Rändern begrenzt sind. Die bekannten rhombischen Tafeln des eigentlichen Cholesterins tauchen in diesem mikroskopischen Bilde nicht auf.

¹⁾ Vgl. „B.“ 47, 1453 u. 1457. 1914.

²⁾ Vgl. „B.“ daselbst.

³⁾ Die den beiden Reaktionsschichten entsprechenden Cholesterinoxide sind in der Arbeit „Abbau des Cholesterins“ X. Mitteil., Zeitschr. f. physiol. Chem. 117, 1921, Abschn. II, Ziffer 1 und 2, S. 208 erörtert und näher definiert worden. Der Kürze wegen sei hier darauf verwiesen.

Versuch 3: Belichtung des lufttrockenen Cholesterins. Angesetzt am 25. II. 1921. zum Teil abgebrochen am 10. X. 1921.

Etwa 20 g des oben erwähnten Eierölcholesterins wurde am Boden einer flachen Schale in dünner Schicht ausgebreitet, mit einer eben solchen aber etwas breiteren Schale überstülpt und dem direkten Sonnenlicht an derselben Stelle wie oben im Versuche 2 ausgesetzt.

Nach 18 Tagen, wo das Cholesterin äußerlich noch kaum eine Veränderung wahrnehmen ließ, zeigte eine entnommene Probe, zu 2% mit weißem Vaseline verschmolzen, bereits eine Hydrophilie von 100% Wasser. Nach 32 Tagen war das Präparat bereits merklich gelblich. Eine Probe, aus Weingeist umkrystallisiert, zeigte unter starker mikroskopischer Vergrößerung durchweg die elliptischen Schuppen des Metacholesterins. Das Filtrat hiervon eingedampft, hinterließ eine erhebliche Menge gelber amorpher und harzartiger Substanz, die mit Essigschwefelsäure stark auf Oxycholesterin reagierte. Nach drei Monaten war das Cholesterin an der Oberfläche bereits stark goldgelb gefärbt. Mit Vaseline in obiger Weise verschmolzen, löste es sich nur zur Hälfte auf, unter Zurücklassung einer hellgelben amorphen Harzmasse. Die abgossene Schmelze, die ja dann nur 1% des Metacholesterins gelöst enthielt, nahm dennoch 200% Wasser auf. Nach dem Umkrystallisieren des belichteten Cholesterinkörpers aus Alkohol, löste sich das *trockene Krystallisat* zu 2% leicht in Vaseline und die Mischung nahm leicht 350% Wasser auf.

Der aus dem alkoholischen Filtrat vom Metacholesterin gewonnene amorphe Teil des belichteten Cholesterins reagierte zwar nunmehr nur mäßig auf Oxycholesterin mit Essigschwefelsäure; gab aber diese Reaktion in sehr intensiver Weise nach der Oxydation der Substanz mit Benzoylsuperoxyd in Eisessiglösung. („Latente“ Oxycholesterinreaktion.) Nach der Behandlung dieses Reaktionsgemisches mit Chloroform gingen Farbe und Spektrum größtenteils, wie bei der gleichen Reaktion der Gallensäuren, in die Unterschicht. Die Substanz gab auch die Mylius-Udranszky'sche Gallenreaktion mit Furfrol-Schwefelsäure¹⁾ in deutlicher Weise; namentlich im Absorptionsspektrum. Sie gibt auch nur teilweise Doppelverbindungen mit Digitonin, die aber nur aus den Komplexen des Metacholesterins und dessen Oxyderivates bestehen.

Dieser Versuch zeigte, wie ersichtlich — gegenüber dem vorhergehenden — deutlich das weitere Fortschreiten des Abbaues des Cholesterins in der Richtung zur Cholsäurebildung.

Weitere aus dem belichteten Präparat gezogene Proben bis zu 9 Monaten der Belichtungsdauer dokumentierten den fortgesetzten Abbau des Cholesterins. Es wird immer bräunlich-gelber und nimmt einen *bitteren Geschmack* an; sein im Vaseline unlöslicher harzartiger und amorpher Teil wird immer größer und die Ausbeute an krystallinischem Metacholesterin geringer. Die Cholestolreaktion sowie die Oxycholesterinreaktionen des amorphen Teils werden fortdauernd schwächer, mißfarbiger und von kürzerer Haltbarkeit und geben keine Doppelverbindungen mit Digitonin. — Die nähere Untersuchung dieser Abbauprodukte des Cholesterins sind noch nicht abgeschlossen.

Im weiteren Verlauf dieser Untersuchungen sollen die Wirkungen der natürlichen wie der künstlich erzeugten einzelnen Strahlengattungen auf Cholesterin studiert werden.

¹⁾ Siehe Hammarsten, Lehrbuch der physiol. Chemie, 7. Aufl., S. 392. 1910.

IV. Das Metacholesterinbromid

ist nach demselben Verfahren herstellbar, wie das Cholesterindibromid¹⁾. Und zwar durch vollständige Absättigung einer 10 proz. Metacholesterinlösung in Äther mit einer gleichstarken, *frisch bereiteten* ätherischen Bromlösung und Fällung des entstandenen Bromids mit 90 proz. Alkohol. Im Gegensatz zum Bromkörper des eigentlichen Cholesterins, das sich bei seiner Fällung zu einem fast steifen Krystallbrei zu gestehen pflegt, bildet das Metacholesterinbromid — unter den sonst gleichen Bedingungen — infolge seiner leichteren Löslichkeit in Ätheralkohol, ein nur loses, schütteres Gemisch. Während ferner 100 Teile eigentlichen Cholesterins nach seiner Bromierung auf den *ersten Anhieb* 105 Teile seines Bromids liefern, ergibt das Metacholesterin noch nicht 80 Teile Bromid, woraus ebenfalls unzweideutig die leichtere Löslichkeit des letzteren im gleichen Lösungsmittel sich ergibt. Der Rest verbleibt daher in der Mutterlauge und scheidet sich erst nach dem freien Verdunsten des Äthers größtenteils aus.

Der Schmelzpunkt des Metacholesterinbromids liegt nach den bisherigen Beobachtungen zwischen 101 und 106°, also ganz erheblich höher als der Schmelzpunkt des Cholesterinbromids, der wiederholt bei 93—94° ermittelt worden ist²⁾. Angesichts der erheblichen Schwierigkeit, eine für die Herstellung und Reinigung seines Bromids genügende Menge völlig cholesterinfreien Metacholesterins zu erhalten³⁾, konnte ich zwar bislang zu einem einheitlichen Schmelzpunkt des Bromids nicht gelangen; hoffe aber, im Laufe der weiteren Untersuchungen auch dieses Datum genauer zu fixieren.

V. Die elementare Zusammensetzung des Metacholesterins.

Konnte nach den bisher festgestellten Konstanten und Daten des Metacholesterins und mancher seiner Derivate seine Verschiedenheit vom eigentlichen Cholesterin außer Zweifel gesetzt werden, so erschien es von erheblicher Bedeutung, auch seine chemische Natur näher zu definieren und seine elementare Zusammensetzung zu ermitteln. Zu diesem Ende empfahl sich zunächst die Feststellung seiner molekularen Größe. Es geschah dies am bequemsten durch das bekannte *Beckmannsche* Verfahren.

Zur Ausführung gelangten 4 Molekulargewichtsbestimmungen, die folgende Zahlen ergaben:

¹⁾ Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 272. 1919.

²⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. **111**, 254 ff. u. **114**, 287 ff. 1921.

³⁾ Aus dem Handel konnte ich bis jetzt zu diesem Ende nur kleinere Mengen reinen Cholesterins, und zwar zu schier unerschwinglichen Preisen, beziehen.

Bestimmung 1 ergab die Molekülgröße von 360,
 Bestimmung 2 ergab die Molekülgröße von 379,
 Bestimmung 3 ergab die Molekülgröße von 361,
 Bestimmung 4 ergab die Molekülgröße von 376¹⁾.

Mittel 369

Das Cholesterinmolekül nach neueren Annahmen: $C_{27}H_{46}O$, fordert 386; die ältere Formel $C_{26}H_{44}O$ dagegen nur 372.

Demnach ist das „*Metacholesterin*“²⁾ als ein Isomeres des eigentlichen (rhombischen) Cholesterins anzusprechen.

Auch die *optische Aktivität* des Metacholesterins (Drehungsvermögen) stimmt mit der des eigentlichen Cholesterins überein. Sie ist negativ (linksdrehend) und betrug $\alpha_{[D]} = -33,7^\circ$ (beim Cholesterin = -31 bis -36). „Sie ist mit dem von der Molekulargewichtsbestimmung wiedergewonnenen, bräunlich gefärbten Material in 1,24 proz. Benzollösung unter Verwendung eines 100 mm-Rohres bei etwa 20° “³⁾ vorgenommen worden.

Hamburg, im Oktober 1921.

¹⁾ Durch die dankenswerte Veranlassung des Herrn Prof. J. Marcussohn wurden die ersten zwei Bestimmungen im Kgl. Materialprüfungsamt, Berlin-Lichterfelde und die letzten zwei — in der Beckmannschen Abt. des Kaiser Wilhelm Instituts, Berlin-Dahlem, ausgeführt.

²⁾ Diese Bezeichnung ist *nicht im konstitutiven Sinne*, sondern lediglich im Sinne einer „*Metamorphose des Cholesterins*“ zu verstehen. Die passendere Bezeichnung „*Isocholesterin*“ ist nämlich seit vielen Jahren für die bekannte Schulzesche Cholesterinart allgemein gebräuchlich, die *nur im Wollschweißfett vorkommt* und mit der obigen neuen Cholesterinform — außer etwa der elementaren Zusammensetzung — nichts gemein hat. (Vgl. Zeitschr. f. physiol. Chem. S. 286 oben und 287, Anm. 2, 1919).

Während diese Arbeit sich bereits im Drucke befand, fand ich im Alkohol-extrakt des sogenannten „*Kau-Gummi*“ neben Phytosterin einen krystallinischen Cholesterinkörper, der sich in seinen Farb- und Spektralreaktionen zum Phytosterin ebenso verhält, wie das obige Schulzesche Isocholesterin zum eigentlichen *tierischen Cholesterin*. Dieser interessante neue Körper, auf den ich demnächst näher zurückkommen werde, ist daher fraglos als **Isophytosterin** anzusprechen.

³⁾ Vermerk des obigen Materialprüfungsamtes, wo auch diese Bestimmung ausgeführt wurde.

Über den Einfluß von Secretinlösungen auf die Darmmotilität.

Von

Katsumi Haramaki (Sagaken).

(Aus der Experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 23. Januar 1922.)

Abgesehen von chemisch genau definierten Verbindungen, die, indem sie nach ihrer peroralen oder subcutanen oder intravenösen Einverleibung die Darmbewegung beeinflussen, als Arzneimittel vielfach Verwendung in der Medizin finden, sind Lösungen von Gemischen organischer und anorganischer Substanz bekannt, die ähnliche Wirkungen entfalten, ohne daß es bisher möglich war, das wirksame Prinzip daraus zu isolieren und zu definieren. Sofern diese Lösungen aus Körpermaterial gewonnen sind, spricht man von Hormonen als den Trägern der physiologischen Wirkung und bezeichnet sie speziell als Peristaltikhormone und stellt sie so den Secretinen an die Seite, die ebenfalls aus Körpermaterial oder im weiteren Sinne auch aus pflanzlichem Material hergestellt werden können und die Sekretionsprozesse beeinflussen.

Für das Secretin gilt, daß es nach seiner intravenösen oder subcutanen Injektion eine Secretion auslöst in bestimmter Weise; diese Sekretion tritt auch dann auf, wenn die Drüse nervös isoliert, d. h. ihrer Nervenverbindung mit dem nervösen Zentralorgan beraubt ist.

Von *G. Zuelzer* ist ein Peristaltikhormon beschrieben worden (Therap. d. Gegenw., November 1917), das aus tierischem Material gewonnen wird, und das nach der intramuskulären Applikation die Darmmotilität kräftig anregt. Von *v. Dohrn* ist behauptet worden, daß beim Verdauungsvorgange diese Hormone von der Darmschleimhaut gebildet werden; so können sie nach ihrer Resorption vom Blut aus wieder die Darmmotilität fördern. Wir hätten also hier einen analogen Vorgang wie bei der Bildung des Magensecretins bei der Magensaftsekretion: das tätige Organ produziert zugleich auch einen seiner Erreger zur Tätigkeit. Es war nun die Frage naheliegend, ob und inwieweit Lösungen, die aus tierischem oder auch pflanzlichem Material hergestellt waren und Secretincharakter aufwiesen, gleichzeitig auch peristaltikfördernde Eigenschaften hätten.

Ich habe darum eine Reihe von Versuchen angestellt, bei denen ich derartige Lösungen mit sicherem Secretingehalt auch gleichzeitig auf ihren peristaltikfördernden Einfluß prüfte.

Wenn man nun eine Secretinlösung, die eine Darmsaftbildung veranlaßt, injiziert, so kann gewiß eine gleichzeitig auftretende Peristaltik durch eine primäre Wirkung einer solchen Lösung auf die motorischen Apparate zustande kommen. Es ist aber auch möglich, daß die motorische Wirkung eine sekundäre ist, daß durch den Erguß von Darmsaft in die Darmhöhle durch Reizung der Darmschleimhaut die Darmbewegung reflektorisch ausgelöst wird. Dann könnte man natürlich nicht von einem Peristaltikhormon als Bestandteil der betreffenden Lösung im strengen Sinne des Wortes sprechen.

Bei meinen Versuchen ging ich zunächst von der Beobachtung *Bickels* und *v. Eweyke*⁴⁾ aus, nach der bestimmte Eiweißkörper nach ihrer Erhitzung auf Temperaturen von 130–200° C und nachträglicher Salzsäurehydrolyse, oder nach der die nachträgliche starke Erhitzung solcher bei 100° C hydrolysierten Eiweißkörper diese Lösungen secretinhaltig macht. Es war dann von *v. Eweyk* und *Tennenbaum*⁵⁾ gezeigt worden, daß der Secretinkörper in diesen überhitzten Eiweißabbauprodukten wahrscheinlich identisch ist mit dem Histamin, von dem *Popielski* nachgewiesen hatte, daß es sowohl Secretincharakter wie auch peristaltikfördernden Charakter hat. Dieser letztere kann am ausgeschnittenen Uterusmuskulaturpräparat des Meerschweinchens in Ringerlösung leicht demonstriert werden.

Daraus geht hervor, daß das Histamin also ganz sicher eine Doppelwirkung hat: Secretinwirkung und peristaltikfördernde Wirkung; daß es alle Bedingungen erfüllt, die man an ein Peristaltikhormon stellen kann; nur ist es ein chemisch definierter Körper und zählt darum nicht mehr zu den Hormonen, von denen wir oben sagten, daß sie eine Gruppe physiologisch, aber nicht chemisch genau definierter Substanzen seien. Gerade die Geschichte der von *Bickel* und *v. Eweyk* entdeckten Hitzesecretine zeigt an dem Beispiel des Histamins, wie durch die fortschreitende Forschung der Hormonalbegriff mehr und mehr eingeengt wird, was die Zahl der in ihm zusammengefaßten Stoffe anlangt.

Secretinlösungen und ihre Wirkung auf die Darmdrüsen sind mehrfach in der Literatur beschrieben worden.

*Mironescu*²⁾ fand im hiesigen Laboratorium, daß durch subcutane Injektion salzsaurer Extrakte aus Oesophagus, Magenfundus, Pylorus, Duodenum, Dünndarm, Dickdarm, Rectum, Speicheldrüsen, Leber und Nebenniere die Darmsaftsekretion angeregt wird. Nach *Mironescu* hatte früher *A. Frouin* festgestellt, daß zentrifugiertes Darmsekret, und *Botazzi* und *Gabrieli*, daß wässriger Darmschleimhautextrakt ebenso wirken. *Hirata*¹⁾ entdeckte im hiesigen Laboratorium, daß die intravenöse Injektion von Molke, wie von Dekokten von pflanzlichen Röstprodukten, wie die subcutane und intravenöse Injektion bestimmter Mengen einer 1proz. Kochsalzlösung eine Darmsaftsekretion bewirken.

Indem ich alle diese Beobachtungen meiner Arbeit zugrunde legte, untersuchte ich, wieweit durch die intravenöse Injektion von Histamin, Spinatsecretin, Molkensecretinlösungen und von Dekokten gerösteter Gerste die Darmmotilität beeinflußt würde.

Die Versuchsanordnung war die von *Katsch*³⁾ beschriebene Methode des experimentellen Bauchfensters am Kaninchen. Die Schwierigkeiten bei der Beurteilung der Resultate sind von *Katsch* eingehend geschildert worden. Ich notiere hier kurz, was man beim Experimentieren mit solchen Kaninchen zu beachten hat.

Zwei bis drei Tage nach der Operation kann man mit den Versuchen beginnen, vorausgesetzt, daß sich das Tier in gutem Zustand befindet. Vor dem Versuch erhält das Tier 24 Stunden lang kein Futter. Während des Versuches muß in der Umgebung des Tieres größte Stille herrschen. Man darf vor allem auch bei den Injektionen in die Ohrvene das Gesicht des Tieres nicht berühren. Vor der Injektion beobachte man genau, ob der Darm ganz still steht, oder man notiere vorhandene, leichte Bewegungen und ermittle, wie häufig dieselben ungefähr in bestimmten Zeiträumen auftreten. Dann injiziert man vorsichtig, ohne das Tier dabei stärker zu reizen oder zu erschüttern. Unter Beobachtung dieser Vorsichtsmaßregeln kann man dann mit hinreichender Sicherheit sagen, ob die Injektion irgendeiner Lösung einen peristaltischen Effekt gehabt hat oder nicht.

Ich nehme das Resultat meiner Versuche hier gleich vorweg.

Es zeigte sich, daß nach der intravenösen Injektion in die Ohrvene beim Bauchfensterkaninchen Histamin, Molkensecretin, Spinatsecretin bei geeigneter Dosierung eine deutliche Darmperistaltik, besonders am Dünndarm, aber auch, obschon in geringerem Grade, am Dickdarm auslösten.

Dekokte von gerösteter Gerste hatten nur einen geringen und unsicheren Erfolg.

Die Injektion von 1% Kochsalzlösung in entsprechenden Mengen, wie die der Secretinlösungen war ganz ohne Effekt. Die Peristaltik trat bei den positiven Versuchen ca. 2—3 Minuten nach der Injektion auf, und die Wirkung hielt 20—30 Minuten an. Dann ward die Darmbewegung rasch schwächer, und schließlich verfiel der Darm wieder in den Ruhezustand, den er vor der Injektion gezeigt hatte.

Vom Histamin wissen wir, wie oben dargetan wurde, daß es die glatte Muskulatur direkt erregt. Der rasche Eintritt der Peristaltik nach der Injektion der vorstehend genannten Substanzen spricht dafür, daß auch hier eine primäre Einwirkung von chemischen Stoffen auf die motorischen Apparate des Darmes vorliegt, und daß die Motilität nicht sekundär durch Anfüllung des Darmlumens mit Sekret aus gelöst wird.

Am stärksten peristaltikerregend wirkte das Histamin, dann die Spinatsecretin- und am schwächsten die Molkensecretinlösung bei den verwandten Dosen.

Versuchsprotokolle.

Herstellung der Secretinlösungen: Das Spinatsecretin wurde nach der von Bickel¹⁰⁾ in seiner Arbeit „Über ein neues Pflanzensecretin“ mitgeteilten Methode durch Salzsäurehydrolyse des Spinats bei 100° C und nachträglicher Reinigung mit Blutkohle hergestellt. Der NaCl-Gehalt betrug: 0,8 ccm = 0,03096 g NaCl.

1 g Trockenspinat entsprach 0,4 ccm Secretinlösung.

Das Molkensecretin wurde gewonnen durch Salzsäurelabung von Milch; 1000 ccm Kuhmilch wurden mit 20 ccm Normalsalzsäure versetzt, das ausgeflockte Casein wurde abfiltriert und die erhaltenen ca. 800 ccm Molke auf dem Wasserbade eingedampft und später von entstehenden neuen Niederschlägen abfiltriert.

1 ccm Molke entsprach 0,5 ccm Secretinlösung und enthielt ca. 2,8% NaCl.

Das Dekokt aus gerösteter Gerste wurde so hergestellt, daß 20 g gemahlener Gerste mit 100 ccm Wasser versetzt und 3 Minuten gekocht wurden. Dann wurde abfiltriert und das Filtrat zur Injektion benutzt.

Das Histamin wurde in einer 1proz. oder 2proz. wässerigen Lösung verwandt.

A. Kaninchen (19. X. 1921 operiert).

I. Versuch (22. X. 1921).

Molkensecretin (1 ccm Molke = 0,5 ccm Secretinlösung).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
9 ^h 20' p. m.	1	—	0	0
1 ^h 20' p. m.	2	—	0	0
3 ^h 00' p. m.	3	+	2	22

II. Versuch (23. X. 1921).

1% Histaminlösung.

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
1 ^h 00' p. m.	1	—	0	0
2 ^h 00' p. m.	2	—	0	0
3 ^h 00' p. m.	3	—	0	0

B. Kaninchen (26. X. 1921 operiert).

III. Versuch (28. X. 1921).

Spinatsecretin (1 g Trockenspinat = 0,4 ccm Secretinlösung).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
11 ^h 20' a. m.	0,8	+	3	16
1 ^h 00' p. m.	1,6	+	3	17

IV. Versuch (28. X. 1921).

4% Kochsalzlösung.

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
3 ^h 00' p. m.	1	—	0	0

C. Kaninchen (1. XI. 1921 operiert).*V. Versuch (6. XI. 1921).*

2% Histaminlösung.

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
11 ^h 00' a. m.	1	—	0	0
1 ^h 00' p. m.	2	+	2	16

VI. Versuch (9. XI. 1921).

Spinatsecretin (1 g Trockenspinat = 0,4 ccm Secretinlösung).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
9 ^h 40' a. m.	0,8	+	3	16
1 ^h 00' p. m.	1,6	+	3	17

D. Kaninchen (21. XI. 1921 operiert).*VII. Versuch (23. XI. 1921).*

Spinatsecretinlösung

(1 g Trockenspinat = 0,4 ccm Secretinlösung.)

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
11 ^h 30' a. m.	0,8	+	3	16
2 ^h 00' p. m.	0,4	—	0	0

E. Kaninchen (19. XII. 1921).*VIII. Versuch (22. XII. 21).*

Molkensecretin

(1 ccm Molke = 0,09 ccm Secretinlösung).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
2 ^h 00' p. m.	0,5	+	3	15

IX. Versuch (23. XII. 1921).

Kochsalzlösung (3%).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
3 ^h 00' p. m.	1	—	0	0

X. Versuch (23. XII. 1921).

Molkensecretin

(1 ccm Molke = 0,09 ccm Secretinlösung).

Zeit der Injektion	Menge der Secretinlösung in ccm	Erfolg	Zeit des Eintritts der Wirkung nach der Injektion in Minuten	Wirkungsdauer in Minuten
11 ^h 00' a. m.	1	+	3	24

Bei den Kochsalzversuchen wurden den Tieren die bei den Spinat- und Molkensecretinversuchen mit den Secretinlösungen injizierten Kochsalzmengen verabfolgt; ein Einfluß auf die Peristaltik war durch Injektion solcher Kochsalzmengen, wie oben bereits bemerkt wurde, nicht zu erzielen.

Literatur.

¹⁾ *Hirata*, Internationale Beiträge zur Pathologie u. Therapie der Ernährungsstörungen 2, 2. Heft. Berlin 1910. — ²⁾ *Minorescu*, ebenda 1, 2. Heft. 1910. — ³⁾ *Katsch*, Zeitschr. f. exper. Pathol. u. Therap. 12. 1912. — ⁴⁾ *Bickel* und *v. Eweyk*, Sitzungsber. d. Preuß. Akad. d. Wissensch. Berlin 1921. — ⁵⁾ *v. Eweyk* und *Tennenbaum*, diese Zeitschr. 1921. — ⁶⁾ *C. v. Noorden*, in Adolf Schmidts Klinik der Darmkrankheiten. 2. Aufl., 1921. — ⁷⁾ *Hans H. Meyer* und *R. Gottlieb*, Die experimentelle Pharmakologie als Grundlage der Arzneibehandlung. 1921. ⁸⁾ *Abderhalden*, Biochemisches Handlexikon. 5. 1911. — ⁹⁾ *Abderhalden*, Lehrbuch für physiologische Chemie. 1. Teil. 1921. — ¹⁰⁾ *Bickel*, Berl. klin. Wochenschr., 1917, Nr. 3. — ¹¹⁾ *M. Guggenheim*, Die biogenen Amine. 1920.

Über Kalkbindung durch tierische Gewebe.

VII. Mitteilung.

Von

E. Freudenberg und P. György.

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

(Eingegangen am 23. Januar 1921.)

Mit 5 Abbildungen im Text.

Wir haben in den Mitteilungen II und VI dieser Untersuchungsreihe¹⁾ festgestellt, daß es nicht gleichgültig für den quantitativen Betrag der an ein Gewebe (Knorpel, Gehirnemulsion) gebundenen Kalkmenge ist, wenn die Anionen, mit denen Ca in das System gebracht wird, variiert werden. Bei diesen Versuchen waren die Kalksalze in Serum gelöst, oder es befanden sich dem Knorpel entstammende eiweißartige Substanzen in der Lösung. Unter diesen Umständen vollzieht sich in Gegenwart von Acetat, Nitrat, Bicarbonat und Phosphat eine stärkere Bindung an die Kolloide der flüssigen Phase als an die feste, nicht aber in Gegenwart von Chlorid und Rhodanid. Ganz entsprechend zeigte sich in Dialyseversuchen mit Serum, daß Acetat und Nitrat, sowie Bicarbonat Ca in indiffusible Form überführten. Eine H-Ionenwirkung war auszuschließen.

Mit dieser Feststellung waren die Annahmen, von denen wir ausgegangen waren, die Theorie *Loebs* über das Verhalten amphoterer Kolloide gegen Salzlösungen auf dieses Gebiet nicht anwendbar, denn nach ihnen soll bei gegebener H-Ionenkonzentration ein amphoterer Kolloid entweder nur Kationen oder nur Anionen binden. Entscheidend hierfür sind die H-Ionenkonzentrationen im System und die Lage des isoelektrischen Punktes des amphoterer Kolloids.

Es schien uns wünschenswert, zur Klärung dieser wichtigen Frage durch Versuche mit anderen Methoden beizutragen. Wir wählten hierzu die Ultrafiltration und Quellungsmessungen.

¹⁾ Diese Zeitschr. 115 u. 124. 1921.

I. Ultrafiltrationsversuche zur Frage der Anionenwirkung.

Verwendet wurde der Apparat von *de Haën*¹⁾. Serum, dem ein geringer Kalkzusatz gegeben und das mit den unten angeführten Salzen (2 ccm von $\frac{1}{6}$ -Lösungen auf 10 Serum) versetzt worden war, wurde mit 0,9proz. Kochsalzlösung 10fach verdünnt und ultrafiltriert. Wir erhielten fast durchweg vollkommen eiweißfreie Filtrate, nur in 3 von 13 Filtrationen war zunächst etwas Eiweiß durchgegangen, das durch Wiederholung der Prozedur beseitigt werden konnte. Die Kalkzusätze (CaCl_2) sind in den einzelnen Proben einer Reihe identisch, in den verschiedenen Serien aber verschieden hoch gewählt. Die Konzentration im Ultrafiltrat ist in Normalität angegeben.

Versuch 1. Zusätze:	KCl	KNO_3	$\text{K}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$	K_2HPO_4	KHCO_3
Ca im Ultrafiltrat:	0,00340	0,00270	0,00200	0,002600	0,00280
Versuch 2. Zusätze:	KCl	KN_3O	$\text{K}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$	K_2HPO_4	
Ca im Ultrafiltrat:	0,0056	0,00494	0,00476	0,00304	
Versuch 3. Zusätze:	KCl	KNO_3	$\text{K}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)$	K_2HPO_4	
Ca im Ultrafiltrat:	0,01240	0,01084	0,01004	0,00740	

Die Versuche zeigen unter sich und mit den früheren Dialyseversuchen vollkommene Übereinstimmung. Die Menge des ultrafiltrierbaren Kalkes ist nach Zusatz von KCl am größten. Nitrat, Acetat, Phosphat und Bicarbonat vermindern diesen Betrag.

II. Quellungsversuche zur Frage der Anionenwirkung.

Die in Mitteilung IV²⁾ wiedergegebenen Quellungsversuche an Knorpel hatten uns gezeigt, daß man bei solchen Versuchen nur dann konstante Ergebnisse erhält, wenn man die Einwirkung der Ca-haltigen Lösung auf den Knorpel von dem zu untersuchenden Quellungsvorgang zeitlich trennt. Wir haben auch die hier mitgeteilten Versuche so angestellt³⁾, daß wir die mit verschiedenen Anionen bereiteten Ca-Lösungen in geeigneter Konzentration ($\frac{1}{10}$ normal) 24 Stunden auf den Knorpel einwirken ließen, der dann getrocknet wurde. Der Quellungsversuch wurde später in destilliertem Wasser ausgeführt. Wir haben in allen Versuchen die h dieses Wassers nach Abschluß der Versuche gemessen, aber niemals eine stärkere oder gar konstante Abweichung bestimmter Proben von den anderen gefunden, so daß wir auch hier H-Ionenwirkung ausschließen. Benutzt wurde Kalbsknorpel und menschlicher Knorpel.

Die Kurven zeigen, daß Knorpel, der in CaCl_2 -Lösung gelegen hat, am wenigsten in seinem Quellungsvermögen gehemmt ist. Bei Nitrat,

¹⁾ Der Apparat wurde uns in dankenswerter Weise von der Fabrik List (Seelze bei Hannover) zur Verfügung gestellt.

²⁾ Diese Zeitschrift 121. 1921.

³⁾ Die Wägungen wurden durch Herrn Dr. *Einstein* in unserem Laboratorium ausgeführt.

noch mehr bei Acetat ist die Quellung stärker herabgesetzt. Wir deuten dies in dem Sinne, daß in Gegenwart von Nitrat und Acetat mehr Ca gebunden wurde als beim Vorliegen des Chlorides. Ein Widerspruch

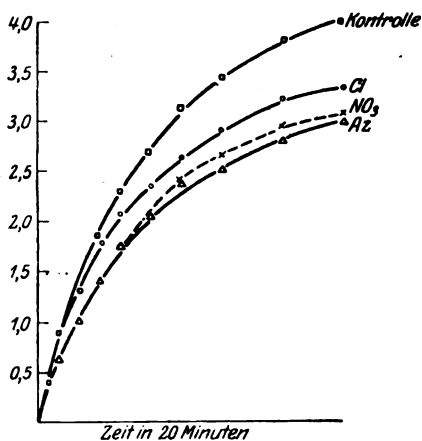


Abb. 1.

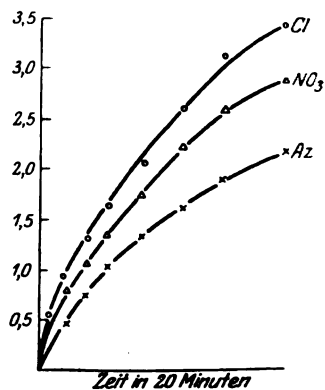


Abb. 2.

mit den Versuchen der Mitteilung II besteht nach den eingangs gemachten Auseinandersetzungen nicht. Diese Versuche haben bei ihrer langen Dauer (3–5 Tage) bei jugendlichem Knorpel zu einem reich-

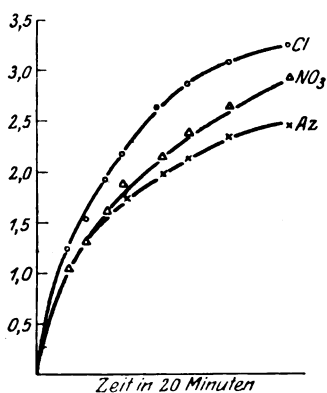


Abb. 3.

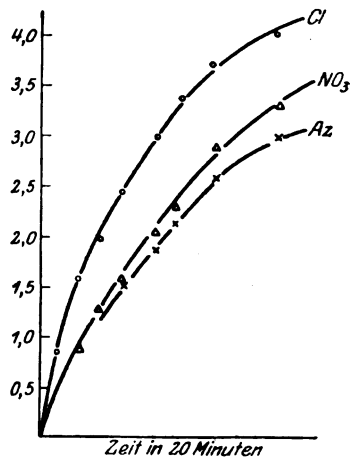


Abb. 4.

lichen Ausdiffundieren von Eiweiß geführt, an welches in Gegenwart von Nitrat und Acetat mehr Ca gebunden wird. Bei den jetzigen kurzfristigen Versuchen kam dies nicht zur Geltung. Wir finden also durchgehend eine Begünstigung der Ca-Bindung an die Gewebeskolloide durch Acetat und Nitrat. Bicarbonat und Phosphat ließen sich in diesen

Versuchen aus technischen Gründen (Ca-Fällung) nicht prüfen, wir vermuten auch bei ihnen ein analoges Verhalten betreffs der Hemmung der Quellung durch Ca.

Anhangsweise sei ein Versuch wiedergegeben, in dem Knorpel der Einwirkung von Calciumacetat in Gegenwart verschiedener organischer Stoffe (0,1 molar) ausgesetzt und später zur Quellung gebracht wurde. Es ist ersichtlich, daß Kreatinin nicht den geringsten Einfluß auf den Quellungsvorgang ausübt, die Kurve deckt sich mit derjenigen, bei der die Probe in reiner Calciumacetatlösung gelegen hatte. Kreatin dagegen hebt die stark quellungshemmende Einwirkung des Kalksalzes auf den Knorpel auf und ebenso Äthylamin. In analoger Weise zeigten sich die Ergebnisse bei Guanidin und Methylguanidin. Wir haben hier also eine vollkommene Bestätigung unserer analytischen Ergebnisse über den Einfluß der genannten Stoffe auf die Kalkbindung durch eine physikalische Methode.

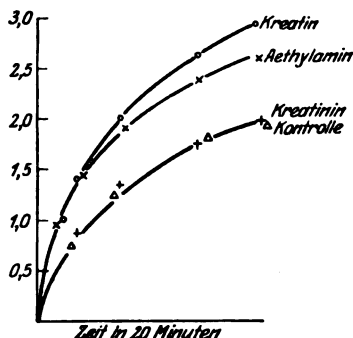


Abb. 5.

Zusammenfassung.

Durch Versuche mit Ultrafiltration und Quellung wird der frühere Befund bestätigt, daß ein Einfluß der Anionen auf die Kalkbindung an die Gewebeskolloide besteht, der nicht auf H-Ionenwirkung zurückzuführen ist. Die Bindung ist beim Chlorid schwächer als beim Acetat, Nitrat, Phosphat und Bicarbonat. Auch die Hemmung der Bindung durch N-haltige organische Stoffe wurde durch Quellungsversuche bestätigt.

Über Kalkbindung durch tierische Gewebe.

VIII. Mitteilung.

Von

E. Freudenberg und P. György.

(Aus der Kinderklinik in Heidelberg.)

(Eingegangen am 23. Januar 1922.)

In einer früheren Mitteilung¹⁾ konnten wir über eine Reihe von organischen, N-haltigen Substanzen berichten, deren hemmender Einfluß auf die Kalkbindung experimentell festgestellt wurde. Während wir in der Erklärung der Wirkung von Aminosäuren uns von der Annahme haben leiten lassen, daß dieselben Kalk zu binden vermögen und hierdurch Ca-Ionen der festen Phase (in unseren Versuchen Knorpel) entziehen, glaubten wir die Hemmung durch Stoffe von Amincharakter (z. B. Guanidin) durch chemische Bindung derselben an die Eiweißkörper der festen Phase ableiten zu müssen. Die für die Ca-Ionen bestimmten Radikale der Eiweißkörper werden durch die betreffenden organischen Substanzen besetzt und die Ca-Bindung bleibt aus. Auf Grund dieser Versuchsergebnisse und Überlegungen schien es von Interesse zu sein, auch andere, bekannt stark reaktionsfähige organische Substanzen in den Kreis unserer Untersuchungen über Kalkbindung einzubeziehen.

Die Wirkung des Formaldehyds auf Eiweißstoffe beruht auf der Bindung des NH_2 -Radikals der freien Aminosäuren. In Anbetracht dieses Verhaltens dehnten wir unsere Versuche in erster Linie auf das Formaldehyd aus. Als weitere Substanzen, deren entquellende, fällende Wirkung auf native Eiweißkörper bekannt ist, verwendeten wir Aceton und Äthylalkohol.

Auch bei diesen Untersuchungen bedienten wir uns einer Art von Kompensationsdialyse, über deren Einzelheiten wir auf unsere V.²⁾ und VI.¹⁾ Mitteilung verweisen. Auf die H-Ionenkonzentration der Ausgangslösungen haben wir ein besonderes Gewicht gelegt, die Form-

¹⁾ Diese Zeitschrift **124**. 1921.

²⁾ Diese Zeitschrift **121**. 1921.

aldehydlösung mußte infolge ihres Gehaltes an freier Ameisensäure mit NaOH neutralisiert werden.

<i>Versuch 1:</i> Formaldehyd (0,1 n). p_H der Ausgangslösung 6,2.		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0196	0,0196
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0186	0,0182
Ca-Bindung in Prozenten	5,1	7,1
p_H nach der Dialyse	6,1	6,0
<i>Versuch 2:</i> Äthylalkohol (0,1 n). p_H der Ausgangslösung 6,3.		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0196	0,0196
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0162	0,0160
Ca-Bindung in Prozenten	17,5	18,1
p_H nach der Dialyse	6,6	6,6
<i>Versuch 3:</i> Formaldehyd (0,1 n). p_H der Ausgangslösung 6,3.		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0166	0,0166
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0148	0,0156
Ca-Bindung in Prozenten	10,8	6,0
p_H nach der Dialyse	5,1	5,0
<i>Versuch 4:</i> Äthylalkohol (0,1 n). p_H der Ausgangslösung 6,1.		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0166	0,0166
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0115	0,0118
Ca-Bindung in Prozenten	30,8	28,9
p_H nach der Dialyse	6,6	6,8
<i>Versuch 5:</i> Formaldehyd (0,1 n).		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0189	0,0194
Ca-Bindung in Prozenten	0	0
p_H nach der Dialyse	6,2	6,3
<i>Versuch 6:</i> Aceton (0,1 n).		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0166	0,0171
Ca-Bindung in Prozenten	13,3	10,4
p_H nach der Dialyse	6,7	6,8
<i>Versuch 7:</i> Formaldehyd (1%).		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0198	0,0198
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0196	0,0218
Ca-Bindung in Prozenten	0	0
<i>Versuch 8:</i> Ohne Zusätze.		
Ca-Normalität vor der Dialyse	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse	0,0163	0,0170
Ca-Bindung in Prozenten	13,3	10,9
p_H nach der Dialyse	6,8	6,7

Wie ersichtlich verhindert Formaldehyd schon in einer Konzentration von $\frac{n}{10}$ die Kalkbindung an Knorpelgewebe, während Äthylalkohol und Aceton in gleicher Normalität die Kalkbindung unbeeinflusst lassen. Eine deutliche Ca-Bindung nehmen wir erst oberhalb 10% an¹⁾.

¹⁾ l. c.

Um das differente Verhalten des Formaldehyds erklären zu können, vergleichen wir den End- p_H in den Versuchen 1–8. Die Zahlen weisen in den Versuchen mit Formaldehyd konstant einen stärker sauren Wert auf als in den Versuchen mit Aceton, Äthylalkohol oder ohne Zusätze. Nun beruht aber die Formoltitration nach *Sørensen* — wie oben schon erwähnt — eben in der Beschlagnahme von NH_2 -Radikalen der Aminosäuren, wodurch der saure Charakter derselben hervortritt. Es liegt sehr nahe in dieser Weise die sauren p_H -Werte in unseren Formaldehydversuchen zu erklären. M. a. W. die Hemmung der Kalkbindung durch Formaldehyd beruht auf der chemischen Reaktion desselben mit den Eiweißkörpern des Knorpels. Die End- p_H -Werte sind nicht so sauer, daß man daraus die Hemmung ableiten könnte. Ob Aceton und Äthylalkohol in höheren Konzentrationen die Kalkbindung — parallel mit ihrer eiweißfällenden Wirkung — doch beeinflussen, muß mangels entsprechender Versuche dahingestellt bleiben.

Als einen weiteren Aldehyd wählten wir den Traubenzucker. Hierbei schwebte uns die *Maillardsche* Reaktion vor Augen, die neuerdings durch mehrere Forscher aufgegriffen und bearbeitet wurde¹⁾. Auch der Zuckerkolloidkomplex des Blutes²⁾ hat Beziehungen zu dieser Frage.

In den folgenden Versuchen kochten wir den Knorpel in einer 1 proz. Traubenzuckerlösung auf, und den Kalk setzten wir erst später der abgekühlten Flüssigkeit zu. Versuchsanordnung sonst wie oben. Durch das Aufkochen wollten wir die Einwirkung des Traubenzuckers auf die Eiweißkörper des Knorpelgewebes im Sinne der *Maillardschen* Reaktion begünstigen. Auch wollten wir die leicht mögliche Infektion und Zuckergärung (Säuerung) vermeiden.

Versuch 9.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0212	0,0212
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0179	0,0194
Ca-Bindung in Prozenten	15,4	8,5
p_H nach der Dialyse	6,09	5,98

Versuch 10.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0212	0,0212
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0169	0,0185
Ca-Bindung in Prozenten	20,2	12,8
p_H nach der Dialyse	5,95	6,06

Versuch 11.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0183	0,0183
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0132	0,0182
Ca-Bindung in Prozenten	27,8	0

¹⁾ *Maillard*, Compt. rend 1912, 66; *Aron*, Jahrb. f. Kinderheilk. **92**, 80. 1920. Vgl. auch *N. Jvanoff*, diese Zeitschr. **120**. 1921.

²⁾ *Rusznjak*, diese Zeitschr. **113**, 52. 1921; *de Haan* und *van Creveld*, diese Zeitschr. **123**, 190. 1921; hier weitere Literatur.

Versuch 12.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0212	0,0212
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0176	0,0213
Ca-Bindung in Prozenten	16,9	0
p _H nach der Dialyse	6,93	6,93

Versuch 13.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0160	0,0182
Ca-Bindung in Prozenten	16,1	0
p _H nach der Dialyse	6,7	6,7

Versuch 14.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0154	0,0180
Ca-Bindung in Prozenten	19,3	5,6
p _H nach der Dialyse	6,75	6,54

Versuch 15.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0212	0,0212
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0167	0,0204
Ca-Bindung in Prozenten	21,0	3,9
p _H nach der Dialyse	7,00	6,71

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Traubenzucker in einer 1proz. Lösung die Kalkbindung an das Knorpelgewebe zu hemmen vermag. Eine 0,1proz. Lösung war ohne Wirkung.

Versuch 16.	ohne Zusätze	mit 0,1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0166	0,0155
Ca-Bindung in Prozenten	13,1	17,7

Versuch 17.	ohne Zusätze	mit 0,1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0176	0,0159
Ca-Bindung in Prozenten	10,3	16,9

Kocht man den Knorpel an Stelle einer kalkfreien Zuckerlösung, der man erst später die Ca-Ionen zufügt, direkt in einer Ca-haltigen Zuckerlösung, so nimmt die Kalkbindung in der Zuckerlösung im Vergleich zu den Werten bei der ersten Methodik stark zu, die Hemmung ist aber noch immer zu demonstrieren, wenn man die Proben ohne Zusätze in Betracht zieht.

Versuch 18.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0194
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0114	0,0142
Ca-Bindung in Prozenten	40,5	25,6
p _H nach der Dialyse	6,5	6,3

Versuch 19.	ohne Zusätze	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0191	0,0191
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0114	0,0154
Ca-Bindung in Prozenten	45,7	19,4
p _H nach der Dialyse	6,8	6,5

Versuch 20.	ohne Zucker	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0137	0,0137
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,0094	0,0118
Ca-Bindung in Prozenten	31,3	13,8
p_H nach der Dialyse	7,2	6,8
Versuch 21.	ohne Zucker	mit 1% Traubenzucker
Ca-Normalität vor der Dialyse . .	0,0137	0,0137
Ca-Normalität nach der Dialyse . .	0,074	0,0102
Ca-Bindung in Prozenten	45,9	25,5
p_H nach der Dialyse	7,1	6,8

Fassen wir unsere Versuche über den Einfluß des Traubenzuckers auf die Ca-Bindung kurz zusammen, so können wir von einer gewissen, oft sehr deutlichen Hemmung derselben berichten. Wir versuchten die Wirkung des Traubenzuckers auf die Kalkbindung in weiteren Versuchen an 1proz. Na-Caseinatlösungen zu reproduzieren, allein wir konnten keine eindeutigen Resultate erhalten. Vielleicht spielt dabei die Verschiedenheit im physikalischen Verhalten der Knorpelweißkörper bzw. des verhältnismäßig fein dispersen Caseins eine Rolle. Die von A. Ellinger und P. Heymann¹⁾ näher studierte erhöhte Flüssigkeitswanderung in die (Casein + Zucker)-haltige Dialysierhülse im Gegensatz zur Caseinlösung ohne Zucker konnten wir in unseren Caseinversuchen regelmäßig beobachten.

Endlich haben wir noch den Einfluß der Temperatur auf die Kalkbindung zu besprechen. Aus den Versuchen 18—21 geht hervor, daß das Kochen der Knorpelstücke mit Kalklösungen die Kalkbindung außerordentlich stark erhöht: die Reaktionsgeschwindigkeit nimmt bei Erhöhung der Temperatur zu. Hiermit gelangen wir in den Besitz eines neuen Beweises über den chemischen Charakter der Kalkbindungsprozesse im Gegensatz zur früher herrschenden mehr physikalischen Auffassung [Adsorption²⁾]. Der folgende Versuch bestätigt das Gesagte.

Versuch 22: 20 ccm 1proz. Na-Caseinatlösung dialysieren gegen 20 ccm Ca-Lösung. Dauer der Dialyse 48 Std.

Dialyse bei 56° C.	1	2
Ca-Normalität nach der Dialyse in der Außenflüssigkeit	0,0052	0,0052
p_H	6,5	6,5

Dialyse bei 6° C.

Ca-Normalität nach der Dialyse in der Außenflüssigkeit	0,0068	0,0066
p_H	6,5	6,55

Schon rein äußerlich konnten bei diesem Versuche grobe Unterschiede im physikalischen Verhalten der Caseinlösungen nach der Dialyse beobachtet werden. War die Casein-Lösung der Probe bei 56° C opak, weiß, milchartig trüb, so erschien die Caseinlösung der Probe bei 6° C durchsichtig, klar, nur angedeutet opak.

¹⁾ A. Ellinger und P. Heymann, Arch. f. exper. Path. u. Pharmakol. **90**, 336. 1921.

²⁾ Vgl. Pfaundler, Jahrb. f. Kinderheilk. **60**. 1904.

Zusammenfassung.

Formaldehyd und Traubenzucker hemmen die Kalkbindung an das Knorpelgewebe, während Äthylalkohol und Aceton in einer Konzentration von 0,1 N. dieselbe nicht beeinflussen. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Kalkbindung nimmt bei Erhöhung der Temperatur zu. Damit ist den früheren ein neuer Beweis für den chemischen Charakter der Kalkbindung an tierische Gewebe hinzugefügt.

Berichtigung.

In der VI. Mitteilung (diese Zeitschr. **124**. 1921) sind die Calciumzahlen in den Abschnitten II und III nicht wie dort angegeben in Normalität, sondern in $\frac{1}{10}$ -Normalität ausgedrückt.

Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoide beim Stoff- austausch der pflanzlichen Zelle.

II. Mitteilung.

Von
Friedrich Boas.

(Aus dem Botanischen Laboratorium der Landwirtsch. Hochschule Weihenstephan.)

(Eingegangen am 25. Januar 1922.)

In 2 Arbeiten^{1) 2)} habe ich versucht, nachzuweisen, daß die Saponin-substanzen durch Änderung des kolloidalen Zustandes der Lipoidmembrane der Zelle eine beträchtliche Erhöhung der Permeabilität herbeiführen können. Diese Permeabilitätserhöhung kann bei den besonders hochwirksamen Saponinen so intensiv sein, daß durch weitgehende Störung des kolloidalen Baues der Zelle der Tod der Zelle eintreten kann, oder daß jedenfalls weitgehende Störungen der Zelltätigkeit sich einstellen. Diese Schädigung der Zellen wird z. B. durch hochwirksame Saponine wie Digitonin, Smilacin und Cyclamin bedingt. Vielleicht spielt z. B. bei Digitonin die bekannte Eigenschaft des Digitonins, sich mit Cholesterin zu verbinden, eine bedeutsame Rolle, doch sei hier auf diese Möglichkeit nicht eingegangen. Als Resultat der 2 angeführten Arbeiten ergab sich, daß sich die untersuchten Saponine in folgende Reihe ihrer Wirksamkeit einordnen lassen: Cyclamin, Digitonin, Smilacin, Saponin Merck, Quillayasaponin und Guajacsaponin. Im übrigen sei auf die betreffende Arbeit²⁾ verwiesen. Nicht näher untersucht ist bis jetzt Solanin und die Wirkung der Gallensäuren bzw. ihrer Salze. Dies sei in der folgenden Arbeit nachgeholt.

1. Versuche mit Solanin.

Solanin bewirkt nach *Kobert*³⁾ Hämolyse noch in einer Verdünnung von 1 : 8300. Es ist demnach, wenn Solanin ausschließlich durch seine Saponinnatur zur Wirkung kommt, eine nennenswerte Steigerung der Gärung zu erwarten. Solanin ist aber auch als glykosidische Base zu betrachten, so daß noch andere Einwirkungen eine Rolle spielen können. Dies scheint in ausgedehntem Maße der Fall zu sein. Denn ich habe durch Solanin nicht einheitliche Resultate erhalten, nämlich sowohl

starke Förderung wie starke Hemmung der Gärung, wobei natürlich auch hier erwähnt sein möge, daß der jeweilige Zustand der Hefe als störender Faktor eine Rolle spielen kann. Im folgenden Versuch 1 möchte ich einige Versuchsergebnisse bringen, in denen sich Solanin vollkommen wie eine Saponinsubstanz verhält.

Versuch 1: 10 ccm dickbreiige, nicht ganz weiß gewaschene Hefe versetzt mit:

- a) 10 ccm Solanin (0,5proz. Aufschlammung) 10 ccm aq. dest.,
- b) 10 ccm Solanin 10 ccm mol. NaCl,
- c) 10 ccm Solanin 10 ccm mol. NaNO_3 ,
- d) 5 ccm Solanin, 15 ccm acqua dest.,
- e) 20 ccm Solaninaufschlammung,
- f) 10 ccm 1proz. Sapotoxinlösung 10 ccm H_2O ,
- g) 10 ccm 3proz. Sapotoxinlösung,
- h) 20 ccm H_2O als Kontrolle,
- i) 10 ccm mol. NaCl, 10 ccm H_2O .

Nach ca. 15 Minuten Zusatz von 20 ccm 15proz. Rübenzuckerlösung (Handelsware).

Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1½	4	5½	7½	22 Stunden	
a)	0,07	0,30	0,45	0,54	0,94	Solanin
b)	0,02	0,18	0,36	0,47	0,90	Solanin NaCl
c)	0,04	0,29	0,48	0,58	0,94	Sol. NaNO_3
d)	0,11	0,32	0,46	0,56	0,87	5 ccm Solanin
e)	0,07	0,34	0,51	0,63	0,86	20 ccm Solanin
f)	0,09	0,32	0,45	0,54	0,88	Sapotoxin
g)	0,11	0,39	0,55	0,65	0,92	Sapotoxin
h)	0,09	0,27	0,43	0,48	0,84	H_2O
i)	0,05	0,37	0,62	0,70	1,02	NaCl

Es wirkt nach dieser Übersicht Solanin für sich in jeder verwendeten Konzentration gärungsfördernd, wenn auch nicht so stark wie das zum Vergleich mitverwendete Sapotoxin. In der Kombination Solanin Neutralsalz ist mindestens Solanin-NaCl deutlich hemmend, während Solanin- NaNO_3 nur anfangs mäßig hemmt. Aber die allgemeine Wirkung der Saponine ist zu erkennen.

Unter ähnlichen Bedingungen wurden mit Solaninchlorhydrat folgende Ergebnisse erhalten.

Versuch 2: Zur Verwendung kamen 10 ccm einer 1proz. Solaninchlorhydratlösung. Versuchsbedingungen sonst wie bei Versuch 1.

Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1½	5	6½	27 Stunden	
a)	0,16	0,77	1,02	1,34	Solaninchlorhydrat.
b)	0,01	0,03	0,05	0,11	Sol. + NaCl
c)	0,11	0,48	0,68	1,24	Sol. + NaNO_3
d)	0,09	0,67	0,86	1,27	NaNO_3

Auch hier ist die *allgemeine Saponinlinie zu erkennen*. In anderen Fällen jedoch wurde eine *fast völlige Hemmung der Gärung durch Solanin beobachtet*; worauf diese *Ungleichheit der Wirkung beruht, ist unklar*.

2. Versuche mit gallensauren Salzen.

Gallensaure Salze wirken sowohl lipoid- als auch eiweißlösend. Bei der Prüfung der gallensauren Salze hat sich nun ergeben, daß sie, in geringer Konzentration angewendet, stark gärungsfördernd, in starker jedoch gärungshemmend und zelltötend wirken. Es spielen die gegenseitigen Mengenverhältnisse zwischen Hefe und gallensauren Salzen demnach eine viel beträchtlichere Rolle als bei den Saponinen, denn die niedrig bzw. mäßig wirksamen Saponine wie Mercksches Saponin, Sapotoxin, Quillayasaponin werden lange Zeit in nennenswerter Menge vertragen, die gallensauren Salze dagegen wirken in größerer Menge äußerst schädlich auf die Zelle ein. Die Wirkung von Gallensäuren und gallensauren Salzen haben *C. Neuberg*, *E. Reinfurth* und *M. Sandberg*⁴⁾ und *C. Neuberg* und *M. Sandberg*^{4a)} bereits ausführlich untersucht. Meine hier mitzuteilenden Ergebnisse decken sich völlig mit denen *Neubergs* und seiner Mitarbeiter.

Die gallensauren Salze stehen im allgemeinen in ihrer Wirkung auf die Hefezelle *den Saponinen sehr nahe*. Besonders scharf kommt diese Eigenschaft zur Geltung in Kombination mit Neutralsalzen, indem in diesem Falle eine fast vernichtende Wirkung auf die Hefezelle eintritt, meist schärfer und präziser, als ich das in der Kombination Saponin-Neutralsalz beobachten konnte. Nach dieser Wirkung ist anzunehmen, daß die Wirkung der Gallensalze vorzüglich auf einer Änderung der Lipokolloide der Zelle und weniger auf einer Beeinflussung der Eiweißkolloide der Zelle beruht. Jedenfalls scheint die Wirkung auf die Lipide im Vordergrund zu stehen.

Nach dieser Vorbemerkung möchte ich einige wahllos herausgegriffene Versuche folgen lassen. Es wurden folgende Salze verwendet: 1. Natrium choleinicum Merck, 2. Natrium glycocholicum Merck, 3. Natrium taurocholicum Merck, 4. Natrium cholalicum, aus krystallisierter Cholsäure Merck hergestellt.

Im Versuch 3 kamen zu 10 ccm dickbreiiger, gewaschener frischer Brauereihefe je 10 ccm einer 2proz. Gallensalzlösung. Es wurden folgende Gäransätze aufgestellt:

- a) 20 ccm Wasser als Vergleichsgärung,
- b) 10 ccm Natrium choleinicum
- c) 10 ccm Natrium glycocholicum + 10 ccm dest. Wasser
- d) 10 ccm Natrium taurocholicum
- e) Natrium chol. + 10 ccm mol. NaCl
- f) Natrium glycochol. 10 ccm mol. NaCl

Nach 20 Minuten langer Einwirkung Zusatz von 20 cem 15% Rübenzuckerlösung.

Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1 $\frac{1}{2}$	5	6 $\frac{1}{2}$	25	Stunden
a)	0,06	0,22	0,30	0,86	Kontrolle
b)	0,11	0,49	0,57	1,01	Natr. cholein.
c)	0,06	0,35	0,44	0,95	Natr. glycochol.
d)	0,07	0,32	0,40	0,92	Natr. taurochol.
e)	0,02	0,04	0,05	0,16	Natr. cholein. + NaCl
f)	0,00	0,02	0,03	0,08	Natr. glycochol. + NaCl
g)	1,01	0,08	0,16	0,71	Natr. taurochol. + NaCl

Es fördern demnach Gallensalze in der verwendeten Konzentration die Gärung beträchtlich, in Verbindung mit Neutralsalz dagegen hemmen sie sehr stark. Die Gallensalze verhalten sich daher völlig wie Saponin-substanzen.

Stärkere Konzentrationen sind sehr schädlich, wie der folgende vergleichende Versuch beweist.

Versuch 4: Es wurden zu 10 cem gewaschener, dickbreitiger Hefe zugegeben:

- a) 10 cem H_2O als Kontrolle
- b) 5 cem 2,4proz. Natr. glycochol. Lösung
- c) 5 cem 2,4proz. Taurocholatlösung
- d) 10 cem Glychocholatlösung
- e) 10 cem Taurocholatlösung
- f) 20 cem Glychocholatlösung
- g) 10 cem Glychocholatlösung + 10 cem mol. NaNO_3
- h) 10 cem Taurocholatlösung + 10 cem mol. NaNO_3
- i) 5 cem 5proz. Saponin + 15 H_2O
- k) 20 cem 5proz. Saponin
- l) 5 cem Saponin $\frac{1}{2}$ 10 cem NaNO_3 + 1 H_2O

Gesamtvolumen nach Zusatz von 20 cem 15proz. Handelszuckerlösung 50 cem.

Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1 $\frac{1}{2}$	4	7 $\frac{1}{2}$	24	Stunden
a)	0,09	0,30	0,50	1,09	Kein Zusatz
b)	0,06	0,34	0,62	1,16	Glycochol. } 5 cem
c)	0,09	0,39	0,69	1,17	Taurochol. }
d)	0,03	0,23	0,49	—	Glycochol. } 10 cem
e)	0,09	0,37	0,61	1,15	Taurochol. }
f)	0,00	0,05	0,09	0,33	220 cem Glycochol.
g)	0,00	0,02	0,04	0,09	Glycochol. NaNO_3
h)	0,02	0,08	0,17	0,67	Taurochol. NaNO_3
i)	0,08	0,35	0,56	1,05	Saponin
k)	0,12	0,42	0,63	1,08	Saponin
l)	0,02	0,04	0,08	0,23	Saponin NaNO_3

Es wirken demnach 0,25% Gallensalze stark fördernd, 0,5% bedingen schon eine erkennbar weniger gute Wirkung, und 1% vernichtet fast schon die Gärung, während 2% Saponin Merck die Gärung stärker anregt als 0,5% Saponin. Zu diesen ganz klaren Versuchsergebnissen ist eine weitere Erklärung nicht nötig.

Da nun die verwendeten Gallensalze nicht völlig rein waren, sei noch ein letzter Versuch mit kristallisierter Cholsäure angeführt. Für diesen Versuch wurden 2 g Cholsäure (Merck) in Soda gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt. Mit dieser Lösung wurde der folgende Versuch durchgeführt.

Versuch 5: Gäransatz. Zu 10 ccm frischer, gewaschener Hefe kamen:

- a) 20 ccm dest. Wasser,
- b) 10 ccm 1proz. Sapotoxin + 10 ccm H_2O ,
- c) 10 ccm Cholsaures Natrium + 10 ccm H_2O ,
- d) 5 ccm Cholsaures Natrium + 15 ccm,
- e) 2 ccm Cholsaures Natrium + 18 ccm H_2O ,
- f) 1 ccm Cholsaures Natrium + 19 ccm,
- g) 5 ccm Cholsaures Natrium + 10 ccm n NaCl + 5 ccm H_2O ,
- h) 5 ccm Cholsaures Natrium + 10 ccm Na_2SO_4 + 5 ccm H_2O ,
- i) 10 ccm Sapotoxin + 10 ccm n NaCl.

Nach 10 Minuten erfolgt Zusatz von 20 ccm 15proz. Rohzuckerlösung. Es wurden entwickelt g CO_2 nach

	1	3 $\frac{1}{2}$	5 $\frac{1}{2}$	7 $\frac{1}{2}$	23 Stunden	
a)	0,06	0,30	0,49	0,57	1,37	Vergleichsgärung
b)	0,10	0,38	0,58	0,65	1,33	Sapotoxin
c)	0,01	0,15	0,23	0,27	0,54	10 ccm Cholsaures Na
d)	0,06	0,27	0,38	0,42	1,42	5 ccm Cholsaures Na
e)	0,08	0,39	0,58	0,64	1,39	2 ccm Cholsaures Na
f)	0,08	0,41	0,62	0,69	1,47	1 ccm Cholsaures Na
g)	0,01	0,01	0,02	0,04	0,06	5 ccm Cholat + NaCl
h)	0,01	0,02	0,05	0,06	0,11	5 ccm NaCholat + Ng_2SO_4
i)	0,06	0,32	0,48	0,54	1,21	Sapotoxin + NaCl

Aus den Versuchen der vorliegenden Arbeit und den Ergebnissen früherer Veröffentlichungen geht hervor, daß die lipoidverändernden Saponinsubstanzen ebenso wie die gallensauren Salze durch Erhöhung der Permeabilität die Gärung durch Hefe z. T. sehr beträchtlich fördern. Dabei können diese 2 Klassen Aktivatoren der Gärung schon wegen ihrer ziemlich hohen Capillaraktivität natürlich ins Innere der Zelle eindringen. *Ihre sonstige Wirkung auf die Zelle scheint aber gering zu sein, da nur die besonders hochwirksamen Saponinsubstanzen wie Digitonin, Smilacin, Cyclamin die Zelle bedeutend schädigen, ebenso die gallensauren Salze, wenn sie in nennenswerter Konzentration auf die Hefe einwirken.* Der Hauptangriffspunkt dieser Lipoidauflockerer bleibt nach wie vor der Lipoidgehalt der Zelle.

Ob die genannten Aktivatoren der Gärung *außer der Erhöhung der Permeabilität* vielleicht noch durch anderweitige *Aktivierung der Zymase selbst* wirksam sind, ist eine andere hier nicht erörterte Frage.

Die Wirkung der Saponinsubstanzen und der gallensauren Salze verlief bei allen Versuchen im allgemeinen sehr gleichmäßig, also ganz so, wie theoretisch zu erwarten war. Dadurch erscheinen diese beiden

Körperklassen in ihrer Wirkung zusammengehörig und unterscheiden sich scharf von vielen anderen die Zelltätigkeit beeinflussenden Stoffen. Es liegt daher nahe, einen Vergleich mit anderen auf Lipide wirkenden Verbindungen hier anzustellen. Von einer solchen Verbindung sei das Narkoticum Äthylurethan gewählt und teils für sich, teils in Kombination mit Neutralsalzen untersucht, also ganz analog, wie es bei der Untersuchung der Wirkung der Saponinsubstanzen gehalten wurde.

Es wurde eine 5 proz. Äthylurethanlösung verwendet und zu 10 ccm gewaschener, dickbreiiger Hefe folgende Zusätze gegeben:

Versuch 6:

- a) 20 ccm dest. Wasser.
 - b) 10 ccm 5 proz. Urethan, 10 ccm Wasser,
 - c) 5 ccm 5 proz. Urethan
 - d) 3 ccm 5 proz. Urethan
 - e) 1,5 ccm 5 proz. Urethan
- } mit Wasser auf 20 ccm ergänzt.
- f) 10 ccm mol. NaCl + 10 ccm Wasser,
 - g) 10 ccm Urethan + 10 ccm NaCl,
 - h) 5 ccm Urethan, 10 ccm NaCl, 5 ccm Wasser,
 - i) 5 ccm 2 proz. Saponin Merck, 15 ccm Wasser,
 - k) 5 ccm Saponin, 5 ccm Urethan, 10 ccm NaCl,
 - l) 5 ccm Saponin, 5 ccm Urethan, 10 ccm Wasser.

Nach guter Durchmischung erfolgte Zusatz von 20 ccm 15 proz. Rohrzuckerlösung. Es wurden entwickelt g CO₂ nach

	2 ³ / ₄	3 ³ / ₄	5	8	Stunden
a)	0,09	0,20	0,31	0,50	Vergleichsgärung
b)	0,08	0,14	0,26	0,38	Urethankolben
c)	0,13	0,19	0,27	0,41	
d)	0,13	0,18	0,30	0,45	
e)	0,12	0,21	0,31	0,48	
f)	0,17	0,28	0,42	0,66	NaCl
g)	0,09	0,19	0,28	0,48	Urethan + NaCl
h)	0,10	0,21	0,32	0,51	
i)	0,19	0,27	0,37	0,56	Saponin
k)	0,02	0,03	0,05	0,07	Sapon. Ureth. NaCl
l)	0,14	0,20	0,28	0,43	Sapon. Urethan

Nach dieser Übersicht wirken bei längerer Versuchsdauer alle Urethankonzentrationen *gärungshemmend*, wenn auch z. T. nur in geringem Maße. In Verbindung mit *Neutralsalzen macht sich im Gegensatze zur Saponinwirkung eine deutliche, wenn auch schwache Hemmung der Urethanwirkung geltend*. Es scheint hier der bekannte *Antagonismus zwischen Salzen und Narkoticis sich bemerkbar zu machen*.

Auf die Frage, wie die Urethanwirkung zustande kommt, will ich nicht ausführlich eingehen. Es könnte eine *Änderung der Permeabilität*, wie es die Lehre von der Narkose annimmt, in Betracht kommen: andererseits ist aber auch eine *direkte Beeinflussung der Eiweißstruktur*

im Zellinnern sehr wohl anzunehmen. Hinsichtlich der Frage der Permeabilitätsbeeinflussung verweise ich hier nur kurz auf die gegensätzlichen Anschauungen Höbers⁶⁾, v. Wintersteins⁸⁾ u. a. einerseits und die J. Traubes⁷⁾ andererseits. Während nämlich die ersteren Autoren Narkotica in narkotisch wirksamen Konzentrationen permeabilitätshemmend wirken lassen, möchte J. Traube auf Grund der gellösenden Eigenschaften der Narkotica Permeabilitätssteigerung annehmen. Da ich aber zu wenig verschiedene Konzentrationen von Urethan untersucht habe, soll schon aus diesem Grunde hier zur Frage der Urethanwirkung keine Stellung genommen werden, da die Bedeutung der Konzentration bei den Narkoticis recht ausschlaggebend sein kann, man vergleiche nur die Versuche von H. Nothmann-Zuckerkindl⁸⁾ mit Alkoholen.

Aus dem vorliegenden Versuche 6 ergibt sich, daß eine Urethan-Neutralsalzkombination die bekannte antagonistische Wirkung zwischen Narkoticum und Neutralsalz erkennen läßt. Sowie nun zu solch einer Kombination noch Saponin hinzukommt, verschwindet die Wirkung der Narkotica, und es kommt die ausschließliche Saponinwirkung zur Geltung. Infolge der weitgehenden Veränderung der Lipoidstruktur durch Saponin können Neutralsalze nunmehr ungehindert in die Zelle eindringen, so daß die Zelle zugrunde geht (Versuch 6k). Daß es sich hier nur um die Wirkung des Neutralsalzes handelt, zeigt Versuch 6l. Eine Saponin-Urethankombination allein zeigt keinerlei schädliche Wirkungen im Vergleiche mit einer Urethanlösung (Versuch 6c) allein. Aus diesem Ergebnis ist vielleicht der Schluß zu ziehen, daß Urethan im Innern der Zelle koagulierende Wirkungen auf das Eiweiß ausübt, so daß die Zymasetätigkeit teilweise gelähmt wird. Läge bei der Urethanwirkung eine reine Einwirkung auf Lipoide vor, dann ist nicht einzusehen, warum bei Zugabe von Saponin ein Teil des Urethans nicht aus der lipoiden Phase verdrängt wird. In diesem Falle könnte dann eine Erhöhung der Gärleistung eintreten. Wenn aber Urethan vielleicht im Innern der Zelle koagulierend wirkt [man vergleiche die Versuche von Warburg und Wiesel⁹⁾ mit Hefepreßsaft], dann würde die mögliche Beeinflussung der Permeabilität durch Urethan, auf die schon hingewiesen wurde, in den Hintergrund treten. Doch soll, wie schon gesagt, die Urethanfrage hier nicht weiter verfolgt werden. Gegenüber einer Narkoticum-Neutralsalzkombination nimmt eine Saponin-Neutralsalzkombination, wie der vorstehende Versuch 6 zeigt, eine ausgesprochene Sonderstellung ein. Um diese Sonderstellung der Saponinwirkung noch weiter hervorzuheben, wurden noch andere Körperklassen in Verbindung mit Neutralsalzen in ihrer Wirkung auf die Hefezelle untersucht. Es sei hier kurz die Wirkung einer Alkaloid-Neutralsalzkombination dargestellt. Es darf hier gleich vorweggenommen werden, daß auch eine

Alkaloid-Neutralsalzmischung*) kein Analogon zur Saponin (bzw. Gallensalz-) Neutralsalzkombination erkennen läßt. Damit ist wohl *bewiesen, daß die Saponinsubstanzen und die ihnen ähnlichen Gallensalze physiologisch eine scharf fixierte Sonderstellung einnehmen. Diese ausgesprochene Sonderstellung beruht wohl ausschließlich auf ihrer Lipoidwirkung.*

Zur Bestätigung der obigen Behauptung, daß Alkaloid-Neutralsalzkombinationen hierbei keinerlei Analoga zur Saponinwirkung zeigen, sei der folgende Versuch 7 angeführt.

Versuch 7: Gäransätze. Zu 10 ccm dickbreiiger, gewaschener Hefe kamen:

- a) 20 ccm destill. Wasser,
- b) 10 ccm 0,4 proz. Chininchlorhydrat + 10 ccm Wasser,
- c) 10 ccm Chinin + 10 ccm 1 proz. Sapotoxin,
- d) 10 ccm Chinin + 10 ccm mol NaCl,
- e) 5 ccm 2 proz. glykocholsaures Natrium + 15 ccm Wasser,
- f) 10 ccm glykochol. Natrium + 10 ccm Cocainchlorhydrat,
- g) 10 ccm 1,5 proz. Cocainchlorhydrat + 10 ccm Wasser,
- h) 5 ccm Chininchlorhydrat + 15 ccm Wasser.

Nach Zusatz von 20 ccm 15 proz. Rohzuckerlösung wurden entwickelt g CO ₂				
nach	1½	5	7	22 Stunden
a)	0,14	0,41	0,56	1,26
b)	0,12	0,42	0,56	1,22
c)	0,08	0,26	0,38	1,24
d)	0,15	0,53	0,68	1,32
e)	0,37	0,55	0,67	1,30
f)	0,02	0,04	0,07	0,24
g)	0,11	0,40	0,51	1,23
h)	0,17	0,49	0,64	—

Aus dieser Übersicht geht hervor, daß, wie ja schon bekannt ist und R. Somogyi¹⁰⁾ im Laboratorium Traubes weiter untersuchte, Chinin in bestimmten Konzentrationen die Gärung deutlich fördert (Versuch 7h), daß Chinin und Neutralsalze wie NaCl ihre gärungsfördernde Wirkung kombinieren (Versuch 7d). Ähnlich wie Chinin verhält sich Cocainchlorhydrat, auch wenn diese Wirkung in dem vorliegenden Versuche nicht zur Geltung kommt. Hinsichtlich der Cocainwirkung sei auf die schon erwähnte Arbeit von R. Somogyi verwiesen. In Verbindung mit Sapotoxin bzw. Gallensalzen verhalten sich jedoch die beiden Alkaloide wie ein Neutralsalz, indem in diesem Falle die Gärung stark gehemmt wird und die Zellen wie z. B. in der Kombination glykocholsaures Natrium—Cocainchlorhydrat bald absterben.

Die Wirkung der Saponinsubstanzen und die physiologisch ähnlicher Verbindungen tritt in dem Versuche 7 deutlich in die Erscheinung. Saponine und Gallensalze öffnen durch Veränderung der schützenden

*) Natürlich sind Neutralsalze wie Lithiumsalze, die an sich schon meist schädlich wirken, auszunehmen.

Lipoidhüllen auch hier den verschiedensten Verbindungen den ungehinderten Zutritt zum Zellinnern. In dem vorliegenden Falle können die flockenden Wirkungen von Chinin und Cocain zur Wirkung kommen und die Zelle zerstören. Im übrigen will ich hier auf die Wirkungen von Alkaloiden auf die Hefe nicht eingehen, da dieses Thema außerhalb des Interesses der vorliegenden Arbeit liegt. In jedem Falle scheint mir auch hier wieder wahrscheinlich gemacht zu sein, daß die Lipide eine Schutzschicht gegen zu rasches Eindringen aller nicht lipoidlöslichen Stoffe bilden. Die Lipide fungieren demnach als Schutzschicht, das habe ich bereits in der ersten Mitteilung kurz erwähnt.

J. Traube, der kein Freund der Lipoidtheorie ist, gibt wenigstens diese Funktion der Lipide zu. Bestimmt als Schutzschicht hat in jüngster Zeit H. Kahho¹¹⁾ von den Lipiden gesprochen. Nach den vorliegenden Untersuchungen muß die Lipidoberfläche weitgehend in ihrer Struktur verändert werden, wenn abnorme Permeabilität eintreten soll.

Wenn man die vorstehenden Versuche überblickt, so tritt von allen untersuchten Körperklassen, nämlich den *Saponinen*, *Narkoticis* und *Alkaloiden*, die Wirkung der Saponinsubstanzen und der ihnen ähnlichen Gallensalze scharf gegenüber den anderen Körperklassen insofern hervor, als sie in Kombination mit Neutralsalzen eine meist in kurzer Zeit äußerst starke Schädigung der Zelle hervorrufen. Die Schädigung wird auf die beträchtliche Permeabilitätserhöhung durch Saponine zurückgeführt. Die Permeabilitätserhöhung selbst beruht auf Änderung der kolloidalen Struktur der Lipide der Zelle. Die Lipide selbst bewirken einen gewissen Schutz gegen rasches Eindringen in die Zelle. Ich will damit nun durchaus nicht behaupten, daß die Lipide ausschließlich an der Regulation des Stoffaustausches der Zelle beteiligt sind, aber daß Lipide in stärkerem Maße bei Permeabilitätsvorgängen eine Rolle spielen, als dies die heutige Botanik annimmt, scheint mir doch sicher zu sein.

Literatur.

- ¹⁾ F. Boas, diese Zeitschr. **117**, 165ff. 1921. — ²⁾ F. Boas, Ber. deutsch. bot. Ges. **39**. 1921. Im Druck. — ³⁾ R. Kobert, Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen. Stuttgart 1904. — ⁴⁾ C. Neuberg, E. Reinfurth und M. Sandberg, diese Zeitschr. **121**, 220. 1921. — ^{4a)} C. Neuberg und M. Sandberg, diese Zeitschr. **126**, 160ff. 1921. — ⁵⁾ und ⁶⁾ Hober und v. Winterstein, Siehe die Zusammenfassung bei H. Winterstein: Die Narkose. Berlin 1919, S. 215, 264ff. — ⁷⁾ J. Traube, Arch. d. ges. Physiol. **153**, 286ff. 1913; ferner diese Zeitschr. **98**, 177ff. 1919. — ⁸⁾ H. Nothmann Zuckerkandl, Internat. Zeitschr. f. chem.-physik. Biologie **1**, 19ff. 1914. — ⁹⁾ O. Warburg und R. Wiesel, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **144**, 465. 1912. — ¹⁰⁾ R. Somogyi, Intern. Zeitschr. f. chem.-physik. Biologie **1**, 416ff. 1914. — ¹¹⁾ H. Kahho, diese Zeitschr. **120**, 139. 1921.

Über die Bedeutung der Kalium- und Calciumionen für das künstliche Ödem und für die Gefäßweite.

Von

Rudolf J. Hamburger.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 28. Januar 1922.)

I. Einleitung.

In den letzten Jahren sind im hiesigen Institut eine Reihe von Untersuchungen ausgeführt worden, aus denen sich u. a. herausgestellt hat, daß die Flüssigkeit, welche *Sydney Ringer* bei seinen klassischen Untersuchungen beim Froschherzen benutzte, nicht zweckmäßig ist für andere Organe des Frosches.

Bekanntlich hat diese *Ringersche* Flüssigkeit die Zusammensetzung: NaCl 0,7%, NaHCO_3 0,02%, CaCl_2 0,02% und KCl 0,01%. Zunächst fanden *Hamburger* und *Brinkman*¹⁾, daß, wenn man diese Flüssigkeit nach Beschickung mit ein wenig Glucose durch das Capillarnetz der Glomeruli strömen läßt, das Glomerulusepithelium alle Glucose durchläßt. Sie konnten aber nach systematisch durchgeführten Untersuchungen eine Durchströmungsflüssigkeit ausfindig machen, die dem Glomerulusepithel die Eigenschaft erteilte, die physiologische Glucosemenge zurückzuhalten. Diese Durchströmungsflüssigkeit hatte die folgende Zusammensetzung: NaCl 0,5%, NaHCO_3 0,2%—0,285%, $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,04%, KCl 0,01%.

Auch für andere Organe des Frosches ist die am meisten physiologische Flüssigkeit in systematischer Weise gesucht worden, und immer fand man die soeben erwähnte Flüssigkeit. Dies stellte sich heraus bei einer Untersuchung der Magenbewegungen durch Reizung des N. vagus²⁾, weiter bei den noch nicht publizierten Untersuchungen über die Bewegungen des Rectums³⁾, und bei einem Studium von *Bolt* und

¹⁾ *H. J. Hamburger* und *R. Brinkman*, Zittingsverslag d. Koninkl. Academie v. Wetensch. te Amsterdam, 29. Sept. 1917; siehe auch diese Zeitschr. 88, 97. 1918.

²⁾ *Brinkman* und *van Dam*, Zittingsverslagen der Koninkl. Acad. v. Wetensch. te Amsterdam, 18. Dez. 1920, S. 899.

³⁾ Demonstration von *van Creveld* auf dem Physiologentag in Amsterdam am 22. Dez. 1921.

Heeres über die Bildung von Gallensteinen¹⁾. Alle diese im hiesigen Institut ausgeführten Untersuchungen haben nachgewiesen, daß die Zweckmäßigkeit der Durchströmungsflüssigkeit beherrscht wird *nicht* durch ihren Calciumsalzgehalt, sondern durch den Gehalt der Calciumionen²⁾. Ähnliches stellte sich heraus bei Warmblütern. Zunächst zeigte *Brinkman*³⁾ den großen Einfluß der Calciumionenkonzentration bei der Hämolyse und *van Paassen*⁴⁾ beim Entstehen spasmophiler Erscheinungen beim Kaninchen. Die Konzentration der Calciumionen ist zwar abhängig von dem Gehalt des Calciumsalzes, doch wird auch im erheblichem Grade bestimmt durch die Konzentration der H-Ionen und HCO_3^- -Ionen. Wie *Rona* und *Takahashi*⁵⁾ gezeigt haben, ist

$$[\text{Ca}^{++}] = K \cdot \frac{(\text{H}^+)}{(\text{HCO}_3^-)} \quad (K \text{ ist konstant und } = 1:350).$$

Aus dieser Formel sieht man, daß Erhöhung der $[\text{HCO}_3^-]$ durch Steigerung des NaHCO_3 -Gehalts in der Durchströmungsflüssigkeit bei ungeänderter $[\text{H}^+]$ eine Verringerung der $[\text{Ca}^{++}]$ zur Folge hat. Zunahme des $[\text{H}^+]$ bewirkt das Entgegengesetzte.

Die Konzentration der Calciumionen kann die Permeabilität des Glomerulusepithels derweise beherrschen, daß *Hamburger* und *Brinkman* sogar bei Durchströmung der Niere mit einer *kaliumfreien* Flüssigkeit noch Retention der physiologischen Glucosemenge beobachten konnten⁶⁾.

Bei dieser Sachlage schien es interessant zu untersuchen, *mit welcher Flüssigkeit das Gefäßsystem eines Frosches durchströmt werden soll, ohne daß Ödem im Hinterbein des Frosches auftritt.*

Zu dieser Arbeit waren wir um so mehr veranlaßt, da vor einigen Jahren (*Gunzburg*⁷⁾ sich auch mit dieser Frage beschäftigt hat. Er fand, daß bei Durchströmung des Gefäßsystems des Frosches mit der *Ringerschen* Flüssigkeit kein Ödem auftritt. Sie hatte die folgende Zusammensetzung: NaCl 0,7%, NaHCO_3 0,2%, CaCl_2 0,02%, KCl 0,01%. Wohl aber war dies der Fall, wenn er in dieser Flüssigkeit das Kalium wegließ oder in zu großen Mengen (mehr als KCl 0,02%) hinzufügte. Statt des Kaliums in der normalen Menge konnte auch Ur , Th oder Rb in bestimmter Menge verwendet werden. Er folgert hieraus, daß, wenn bei Durchströmung mit einem Salzgemisch kein Ödem auftreten soll, immer K (oder Ur , Th , Rb) in der Durch-

1) *Bolt* und *Heeres*, Nederl. Tydschr. v. Geneesk. **65**, 2. Hälfte, Nr. 10. 1921. Auch *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* noch nicht erschienen.

2) Siehe auch *H. J. Hamburger*, „Permeability in Physiology and Pathology“, *Lancet* **2**, 1055. 1921.

3) *Brinkman*, diese Zeitschr. **95**, 101. 1919.

4) *van Paassen*, Nederl. Tydschr. v. Geneesk. **65**, 2. Hälfte, Nr. 17. 1921.

5) *Rona* und *Takahashi*, diese Zeitschr. **49**, 370. 1913.

6) *Hamburger* und *Brinkman*, diese Zeitschr. **88**, 97. 1918.

7) *Gunzburg*, Arch. Néerl. d. Physiol. **2**, 364. 1918.

strömungsflüssigkeit vorhanden sein muß. *Er spricht hier dem Kalium eine spezifische radioaktive Wirkung zu.*

Auch fand *Gunzburg*, daß bei Durchströmung mit einer kaliumfreien *Ringerschen* Flüssigkeit kein Ödem auftritt, wenn die Flüssigkeit mit Sauerstoff gesättigt worden ist. Auf letzteren Befund kommen wir im dritten Paragraph dieses Aufsatzes, in dem es sich um die Gefäßweite handeln wird, zurück.

Es scheint besser, uns zuerst näher mit dem Befund *Gunzburgs* zu beschäftigen, daß Kalium notwendig ist in der üblichen *Ringerschen* Flüssigkeit, wo es gilt, kein Ödem zu erzeugen.

II. Der Einfluß des Kalium- und Calciumionengehalts auf das Entstehen von Ödem.

Wie oben erwähnt, können nach *Hamburger* und *Brinkman* die Ca-Ionen ein so völliges Gleichgewicht erzeugen, daß in der Durchströmungsflüssigkeit das Kalium ohne Nachteil, d. h. ohne daß die physiologische Glucosemenge durch die Glomerulusmembran passiert, weggelassen werden kann. Doch dann muß die $[Ca^{++}]$ einen scharf bestimmten Wert haben. Vielleicht ist dasselbe, was sie bezüglich der Nierengefunden haben, auch der Fall bezüglich des Ödems. Dies zu untersuchen ist der Zweck der nachstehenden Experimente.

Technische Bemerkungen.

Ein Frosch wurde dekapitiert und das Rückenmark mittels einer Nadel zerstört. Dann wurde die Bauchwand mit einer Schere geöffnet und die Bauchvene distal abgebunden. Der Schultergürtel und die vorderen Extremitäten wurden entfernt. Der Darm wurde beim Rectum durchgeschnitten und die Eingeweide, das Herz und die Lungen aus dem Körper genommen. Nur die Nieren und Testes blieben im Körper zurück. Dann wurde einer der *A. iliacae communes* abgebunden. Dadurch wurde nur eins der Beine durchströmt, so daß ein eventuelles Ödem mittels Vergleichung mit dem anderen Bein deutlich sichtbar war. Damit die Beine nicht eintrockneten, wurden sie mit feuchtem Filtrierpapier bedeckt. Dann wurde die Aorta abdominalis an der Stelle wo die beiden Aortenbogen zusammenkommen, eingeschnitten und eine Kanüle gebunden in die Aorta abdominalis. Die Kanüle war verbunden mit einer an einem Stativ befestigten Flasche mit Gummistopfen. Dieser Stopfen war durchsetzt von zwei Glasröhren; die eine war mittels eines Gummischlauchs mit der Kanüle verbunden, während die andere mit der Außenluft in Verbindung stand. Das Aufsteigen von Luftblasen durch die Flüssigkeit in der Flasche aus diesem Rohr war das Kriterium, ob die Flüssigkeit strömte.

Die Höhe der Flasche war in Millimeter geteilt. Ein Volumunterschied von 70 ccm gab einen Niveauunterschied von 1 cm. Der Druck wurde dadurch geregelt, daß die Flasche höher oder niedriger gestellt wurde. Der Druck wurde gemessen mittels eines Flüssigkeitsmanometers.

Der Schenkel des durchströmten Beines wurde zwischen zwei Holzblöckchen gelegt, von denen eines in der horizontalen Fläche beweglich war und mittels einer Schraube befestigt werden konnte. Das andere Blöckchen war unbeweglich. Fängt nun der Schenkel, der im Anfang genau zwischen den Blöckchen paßt, zu schwellen an, so wird diese Schwellung an der Unterseite und an den beiden Seiten

zurückgehalten und kann sich nur nach der Oberseite geltend machen. Dadurch schwillt die Oberseite des Schenkels mehr, als wenn der Schenkel frei hätte schwellen können. Dann wird an die Haut eine Serre-fine befestigt, welche mittels eines Drähtchens an einem Hebel hängt, der in einem Schreibstift endigt. Die Länge des Hebels wird mittels einer Schraube so geregelt, daß die Serre-fine praktisch nicht an die Haut des Schenkels zieht. Man sorgt dafür, daß beim Anfang des Experiments der Schreibstift horizontal steht. Fängt das Bein zu schwellen an, dann geht der Schreibstift nach unten und zeichnet auf einem Kymographion eine fallende Linie. Wenn man die vertikale Distanz vom Beginn- und Endpunkt dieser Linie mißt, hat man ein Maß für das Ödem. Diese Methode scheint besser wie die von *Gunzburg* gefolgte, der die Gewichtsvergrößerung bestimmte. Wog ja *Gunzburg* auch die Flüssigkeit, welche sich in den Leibeshöhlen gesammelt haben kann, wodurch die Messungen weniger genau wurden, während bei unserem Verfahren nur das Ödem gemessen wurde.

In derselben Weise, wie es schon früher im hiesigen Institut getan war, wurde auch diesmal die Durchströmungsflüssigkeit in systematischer Weise aufgebaut. Um zu wissen, ob die Flüssigkeit bei Durchströmung durch die Muskeln nicht etwa eine starksaure Reaktion bekam, wurde ein wenig NaOH hinzugefügt, bis die Reaktion der Durchströmungsflüssigkeit alkalisch war (Neutralrot).

Zuerst wurden die Experimente *Gunzburgs* mit der üblichen *Ringer*-schen Flüssigkeit wiederholt. Sie wurden bestätigt; es entstand kein Ödem. Wenn das Kalium weggelassen wurde, sah ich, wie auch *Gunzburg*, Ödem auftreten. Unsere betreffenden Versuchsergebnisse stimmen also vollkommen überein. *Mit der Weise, in welcher Gunzburg seine Befunde deutet, können wir auf Grund eigener nachstehender Versuche nicht einverstanden sein.*

Aus den obenerwähnten, im hiesigen Laboratorium gefundenen Tatsachen hatte sich ergeben, daß die $[Ca^{++}]$ in der Durchströmungsflüssigkeit eine beherrschende Rolle spielt. Daher wurde durchströmt mit Gemischen von NaCl 0,6% und $CaCl_2 \cdot 6 aq$, die nur in ihrem $CaCl_2 \cdot 6 aq$ -Gehalt voneinander verschieden waren. Von diesen Versuchen mit verschiedenen Durchströmungsflüssigkeiten folgt hier von jeder Gruppe ein Beispiel.

1. Durchströmungsflüssigkeit NaCl 0,6% + $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,003%.
Druck 50 cm.
Durchgeströmte Flüssigkeitsmenge 455 ccm.
Resultat: *starkes Ödem.*
2. Durchströmungsflüssigkeit NaCl 0,6% + $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,005%.
Druck 25 cm.
Durchgeströmte Flüssigkeitsmenge 367 ccm.
Resultat: *deutliches Ödem.*
3. Durchströmungsflüssigkeit NaCl 0,6% + $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,006%.
Druck 60 cm.
Die Flüssigkeit strömt sehr schnell, und schon wenn nur 35 ccm der Flüssigkeit durchgeströmt ist, tritt *starkes* Ödem auf, das allmählich noch stärker wird.

4. Durchströmungsflüssigkeit $\text{NaCl } 0,6\% + \text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,007\%$.

Druck 35 cm.

Durchgeströmte Flüssigkeitsmenge 476 ccm.

Resultat: *kein Ödem*. Andere Versuche mit dieser Durchströmungsflüssigkeit gaben analoges Resultat, selbst bei einem Druck von 70 cm.

Man wird den Einwand erheben, daß in allen diesen Versuchen ein verschiedener Druck herrschte, obwohl der Druck ein nicht gleichgültiger Faktor beim Entstehen des Ödems ist. Es wäre also möglich, daß die erhaltenen Resultate dadurch in überherrschendem Maße beeinflußt wurden. Ich möchte dagegen anführen, daß bei den sub 4 genannten Versuchen auch kein Ödem auftrat bei einem Druck, der höher war als der sub 1, 2 und 3 verwendete, während da wohl Ödem auftrat. Das Nichtauftreten des Ödems bei Durchströmung mit $\text{NaCl } 0,6\% + \text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,007\%$ ist also nicht mittels des Druckunterschiedes zu erklären, doch rührt es von dem $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ -Gehalt her.

Diese Versuche zeigen also, ebenso wie die von *Hamburger* und *Brinkman* u. a., deutlich den großen Einfluß kleiner Unterschiede der $[\text{Ca}^{++}]$. Hier tritt beim Versuch sub 3 starkes Ödem auf, während beim Versuch sub 4 bei demselben Druck (60 cm) kein Ödem auftritt. *Jedoch beträgt der Unterschied zwischen den beiden Durchströmungsflüssigkeiten nur $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,001\%$.*

Die obenstehenden Versuche haben also bewiesen, daß Kalium (oder ein anderes radioaktives Element wie Ur, Th, Rb) in der Durchströmungsflüssigkeit weggelassen werden kann, ohne daß Ödem auftritt, wenn nur die Durchströmungsflüssigkeit eine scharf bestimmte $[\text{Ca}^{++}]$ hat, und zwar eine $[\text{Ca}^{++}]$, die übereinstimmt mit $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,007\%$ ¹⁾.

Es schien nun interessant, zu dieser Durchströmungsflüssigkeit ($\text{NaCl } 0,6\% + \text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,007\%$), welche ja kein Ödem erzeugt, ein wenig Kalium hinzuzufügen. Diese neue Flüssigkeit ($\text{NaCl } 0,6\% + \text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq } 0,007\% + \text{KCl } 0,01\%$) erzeugte ein deutliches Ödem, schon wenn 161 ccm durchgeströmt waren. *Die bezüglichen Befunde Gunzburgs rühren also nicht von einer spezifischen Kaliumwirkung gegen Ödembildung her.*

Vielmehr erhellt es, daß Calcium, wenn es in einer bestimmten Konzentration in der 0,6 proz. NaCl-Lösung vorhanden ist, Ödembildung hemmt, und daß diese ödemhemmende Wirkung des Calciums durch das antagonistische Kalium balanciert wird, oder, je nach der Menge, überbalanciert wird. Das steht in Übereinstimmung mit dem Befund *Gunzburgs*, daß ein Übermaß von KCl (mehr als 0,02%) in der *Ringer*-schen Flüssigkeit wohl Ödem erzeugt.

¹⁾ Da die $[\text{Ca}^{++}]$ nur zwischen so engen Grenzen schwanken darf, ist es natürlich möglich, daß bei anderen Froscharten der $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ -Gehalt ein wenig größer oder kleiner als 0,007% sein wird.

Gunzburgs Befund, daß eine kaliumfreie Ringersche Flüssigkeit Ödem erzeugt, rührt wahrscheinlich von dem von ihm gebrauchten kleinen NaHCO_3 -Gehalt (0,02%) her, der nach der Formel von Rona und Takahashi einen großen Ca-Ionengehalt herbeiführt.

Daß in der Tat der von ihm gebrauchte Ca-Ionengehalt viel größer ist als in unserem NaCl-CaCl_2 -Gemisch, stellte sich bei einer direkten Messung der $[\text{Ca}^{++}]$ nach *Brinkman* und *van Dam*¹⁾ heraus. Es zeigte sich, daß diese in der von *Gunzburg* benutzten üblichen *Ringerschen* Flüssigkeit 20 mg pro Liter ist, während sie im Gemisch NaCl 0,6% und $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,007% 13 mg pro Liter beträgt, ein Unterschied also von 7 auf 20, d. h. 35%.

Indessen ist das Bestehen eines Antagonismus zwischen K und Ca nicht neu. *Sydney Ringer* hat zum ersten Male den Kalium-Calcium-Antagonismus für das Herz gezeigt, und nach ihm ist von vielen anderen²⁾ die große Bedeutung des K:Ca-Gleichgewichtes für verschiedene Organe und Lebensprozesse gezeigt worden. Und so wundert es uns nicht, daß auch für die Permeabilität der Gefäßwand das Gleichgewicht der K- und Ca-Ionen von großer Bedeutung ist.

III. Der Einfluß des Kalium- und Calciumionengehaltes auf die Gefäßweite.

Bereits 1911 fanden *Chiari* und *Januschke*³⁾, daß Calciumsalze eine hemmende Wirkung auf die Bildung von Transsudaten und Exsudaten haben. Sie spritzten bei Hunden intravenös Jodnatrium, Thiosinamin und Diphtherietoxin ein. Bei Sektion fanden sie dann Pleuraergüsse. Dies war aber nicht der Fall, wenn sofort nach der intravenösen Einspritzung ein Calciumsalz injiziert wurde. Auch erzeugten sie ödematöse Schwellung der Conjunctiva beim Kaninchen, indem sie Senföl in den Hautbindesack brachten. Wenn aber zuvor dem Kaninchen subcutan Calciumsalz eingespritzt war, trat keine sichtbare Entzündung ein.

Sie erklären diese Tatsachen durch die Annahme, daß Calcium eine dichtende Wirkung auf die Gefäßwand ausübt. Man fragt sich, ob nicht in unseren Durchströmungsversuchen die Calciumionen in derselben Weise wirken. Auf Grund des oben Stehenden muß man dann die Annahme machen, daß bei einem $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ -Gehalt, der

¹⁾ *Brinkman* und *van Dam*, Verslagen Koninkl. Acad. v. Wetensch. te Amsterdam, 25, Okt. 1919, S. 417; siehe auch die englische Übersetzung in *Proceedings Kon. Akad. v. Wetensch.*

²⁾ *Rou*, Journ. of Physiol. **30**, 5-6, S. 461. 1904; *Neuschloß*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 17. 1920; *Hamburger* und *Brinkman*, l. c.; *Zondek*, diese Zeitschr. **121**, 87. 1921; *Teschendorf*, diese Zeitschr. **118**. 1921; *Spiro*, Schweiz. med. Wochenschr. **20**, 1921 u. a. Zusammenfassend *T. P. Feenstra*, Ionenbalanceering. Inaug.-Diss. Utrecht 1921.

³⁾ *Chiari* und *Januschke*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. **65**, 120/126. 1911.

kleiner ist als 0,007%, die $[Ca^{++}]$ noch zu klein ist, um eine merkbare dichtende Wirkung herbeizuführen und Ödem vorzubeugen, und daß dies wohl der Fall ist bei Anwendung von $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,007%.

Es lag nun auf der Hand, die Wirkung auf die Ödembildung auch bei einer $[Ca^{++}]$ zu untersuchen, welche größer ist als mit $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,007%. Es schien ja nicht unmöglich, daß Steigerung des Calciumionengehalts den entgegengesetzten Einfluß ausübt, also Ödem herbeiführen würde, entsprechend den Erfahrungen von *Hamburger* und *Brinkman* bei den Nieren (l. c.), von *Brinkman* bei den roten Blutkörperchen (diese Zeitschr. 95, 101. 1919) und entsprechend den physikalisch-chemischen Erfahrungen von *Neuschloß*, nach dem eine zu große Ca -Ionenkonzentration denselben Einfluß auf die Oberflächenspannung von Kochsalz-Lecithingemischen hat wie eine zu kleine (*Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* 181, 17. 1920).

Zu diesem Zweck wurde mit $NaCl$ 0,6% + $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,01% durchströmt. Da bekamen wir ein ganz unerwartetes Resultat: *Die Strömung der Flüssigkeit stockte*. Selbst eine erhebliche Steigerung des Druckes war nicht imstande, dieselbe herzustellen. Als dieses Resultat sich mehrmals wiederholte, auch bei höherer Ca -Konzentration, waren wir wohl genötigt, die Herbeiführung von Ödem durch einen höheren Ca -Ionengehalt aufzugeben und an eine Gefäßkontraktion zu denken.

Eine Gefäßkontraktion durch Calcium ist schon früher beobachtet worden¹⁾.

Es wäre nun möglich, daß die Gefäßkontraktion durch Zusatz von K weichen würde. In der Tat stellte sich heraus, daß, wenn zu der *Durchströmungsflüssigkeit* $NaCl$ 0,6% + $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,01% KCl 0,01% hinzugesetzt wurde, die Flüssigkeit wieder zu strömen anfing. Demnach besitzt im System $Na + Ca$ die $[Ca^{++}]$, welche größer ist als übereinstimmt mit $CaCl_2 \cdot 6 aq$ 0,007%, eine gefäßkontrahierende Wirkung welche durch K -Ionen balanciert werden kann²⁾.

Um den Einfluß der Ca - und Kaliumionen in systematischer Weise zu untersuchen, wurde mit einer calciumhaltenden Flüssigkeit durchströmt, zu der abwechselnd Kalium hinzugefügt und nicht hinzugefügt war.

Die Durchströmungen wurden folgenderweise ausgeführt:

An ein Bein eines rechtwinkligen Glasrohres sind drei andere Röhren geschmolzen worden. Zwei dieser Seitenröhren sind mittels Gummischläuche mit zwei an Stativen befestigten Flaschen verbunden, welche resp. eine kaliumhaltende und eine kaliumfreie Flüssigkeit enthalten. Ein langes rechtwinklig gebogenes Glasrohr wird als Manometer benutzt. Das kurze horizontale Bein ist verbunden mit dem dritten der Seitenröhren und ist in einer horizontalen Fläche

¹⁾ *Teschendorf*, l. c.; *Hooker*, Amer. Journ. of Physiol. 28, 361—367. 1911.

²⁾ *Teschendorf*, l. c., fand die antagonistische Wirkung der K -Ionen auf die durch Ca -Ionen bedingte Muskelkontraktion.

mit dem durchströmten Frosch. Das andere Bein des ersten rechtwinkligen Glasrohres ist mittels eines dünnen Gummischlauches mit der Kanüle verbunden.

Nachstehende Tabelle zeigt das Resultat einer der Versuchsreihen.

Die verschiedenen Durchströmungsflüssigkeiten sind eingeschalten in der in der Tabelle angezeigten Reihenfolge. Jede neue Durchströmungsflüssigkeit wurde durch kurzes Massieren des Gummischlauches mit der Gefäßwand in Berührung gebracht. Bei jeder Durchströmung ist der Druck der höchste, wobei die Flüssigkeit nicht strömte, resp. der niedrigste, wobei dies wohl der Fall war. Das Strömen der Flüssigkeit wird mit dem Zeichen +, das Nichtströmen mit — bezeichnet.

Durchströmungsflüssigkeit	Druck	Strömung
NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01%	61,5 cm H_2O	—
NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01% + KCl 0,01%	53,3	+
NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01%	56	—
NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01% + KCl 0,01%	53,3	+
NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01%	54,4	—

Dieser Versuch — und ähnliche Versuche ergaben dasselbe Resultat — zeigt, daß Ca-Ionen, in einer größeren Konzentration als bedingt wird durch $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,007%, eine deutliche gefäßkontrahierende oder besser verschließende Wirkung ausüben, welche durch Kalium beseitigt werden kann. Diese Wirkung ist reversibel.

Wenn man diesen Befund mit den von Chiari und Januschke gefundenen Tatsachen kombiniert, kommt man zu der Voraussetzung, daß eine bestimmte $[\text{Ca}^{++}]$ zugleich mit einer gefäßkontrahierenden Wirkung auch eine dichtende auf die Gefäßwand ausübt. Diese beiden Wirkungen werden also durch Kalium beseitigt.

Daß gefäßkontrahierende und gefäßdichtende Wirkung miteinander einhergehen können, dürfte auch wohl hervorgehen aus den Beobachtungen über den Einfluß von Sauerstoff. So fand *Sevérine*¹⁾, daß Sauerstoff Gefäßkontraktion herbeiführt, und bei *Gunzburg*²⁾ liest man, daß eine kaliumfreie *Ringersche* Flüssigkeit, welche sonst immer Ödem erzeugte, kein Ödem gab, wenn sie mit Sauerstoff gesättigt worden war. Es scheint also, daß nicht nur mit Bezug auf eine bestimmte Konzentration der Calciumionen, aber auch bezüglich des Sauerstoffs Gefäßkontraktion sich paart mit Dichtung der Gefäßwand.

Es schien interessant zu untersuchen, welche minimale KCl-Menge verwendet werden sollte bei einem bestimmten Druck, z. B. 50 cm, um die durch NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01% herbeigeführte Gefäßschließung rückgängig zu machen. Es stellte sich heraus, daß 0,004% KCl genügte.

¹⁾ *Sevérine* (Luigi), „Ricerche sulla innervazione dei vasi sanguigni“. Perugia Boncompagni et Cie. 1878 (zitiert nach *Bayliss*, „Principles of General Physiology“, 1915, S. 534); *D. R. Hooker*, l. c.

²⁾ *Gunzburg*, l. c.

Noch zwei Bemerkungen.

Die erste gilt der Methode *Trendelenburgs* zur Messung der vaso-constrictorischen und vasodilatatorischen Wirkung verschiedener Substanzen. Wie bekannt, durchströmt *Trendelenburg* das Gefäßsystem eines Frosches mit der üblichen *Ringerschen* Flüssigkeit, in die eine auf ihre Gefäßwirkung zu prüfende Substanz aufgelöst wird. Die abfließende Flüssigkeit läßt er durch eine Kanüle abtropfen, und dann zählt er die Tropfenzahl pro Zeiteinheit vor und nach der Zeit, zu der die zu prüfende Substanz in die Durchströmungsflüssigkeit gebracht war. War z. B. im zweiten Fall die Tropfenzahl kleiner als im ersten Fall, dann hat die Substanz eine gefäßkontrahierende Wirkung. Der Unterschied der Tropfenzahl ist zugleich ein Maß für die Intensität der Gefäßwirkung.

Wie wir aber nachgewiesen haben, beeinflußt das K:Ca-Gleichgewicht die Gefäßweite. Wenn also in der Durchströmungsflüssigkeit das Verhältnis der K- und Ca-Ionen nicht normal ist, so sind auch die Gefäße nicht normal, und man darf aus dem Verhalten verschiedener Substanzen auf die abnormen Gefäße keine Schlußfolgerungen bezüglich ihres Verhaltens auf normale Gefäße machen. Bei Messungen der Gefäßweite nach *Trendelenburg* sollte also das Verhältnis der K- und Ca-Ionen in der Durchströmungsflüssigkeit nicht unberücksichtigt bleiben, wie das bis jetzt geschehen ist.

In zweiter Linie dürfte es nicht unerwünscht sein, hervorzuheben, daß eine Salzlösung, welche bei Durchströmung kein Ödem erzeugt, darum noch nicht als physiologisch bezeichnet werden darf. Denn es fehlen Kolloide darin. Eine gut äquilibrierte Salzlösung ohne Kolloide wird stets Ödem erzeugen. Ein großer Gehalt an freien Ca-Ionen in der verwendeten Flüssigkeit, sowie auch das Vorkommen in der Durchströmungsflüssigkeit anderer Stoffe, wie z. B. Sauerstoff, die ebenso wie Ca-Ionen eine dichtende Wirkung auf die Gefäßwand ausüben, sind die Ursache, daß sich doch Salzlösungen haben herstellen lassen, welche kein Ödem erzeugen; doch diese künstliche Dichtung ist nicht physiologisch.

Damit ist natürlich nicht gesagt, daß man mittels kolloidfreier Salzlösungen keine wirklich physiologische Tatsachen feststellen kann, wie das z. B. für das Gleichgewicht K : Ca gefunden worden ist.

Zusammenfassung.

1. Bei Durchströmung des Froschbeins mit Salzlösung kann man K weglassen, ohne daß Ödem auftritt. Dazu muß aber die Durchströmungsflüssigkeit eine bestimmte Konzentration von Ca-Ionen besitzen. Ein Gemisch von NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,007% ist dazu zweckmäßig. Wendet man $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,006% an, so entsteht Ödem.

Dasselbe ist auch der Fall, wenn zu dem erstgenannten Gemisch von $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,007%, 0,01% KCl hinzugefügt wird. Die Ursache dieses Phänomens muß darin gesucht werden, daß die dichtende Wirkung der Ca-Ionen durch die antagonistischen K-Ionen beseitigt wird.

2. Der Befund *Gunzburgs*, der mit der üblichen 0,02% NaHCO_3 enthaltenden *Ringerschen* Flüssigkeit kein Ödem erzeugte, rührt von der Tatsache her, daß in dieser Flüssigkeit ein großes Übermaß von freien Ca-Ionen vorhanden ist und das Kalium einen Teil dieser überschüssigen Ca-Ionen neutralisiert. Das Vorbeugen von Ödem bei *Gunzburg* ist also *nicht einer spezifischen radioaktiven Kaliumwirkung zu verdanken*, sondern lediglich dem längst bekannten Kalium-Calciumantagonismus.

3. Direkte Bestimmungen der Ca-Ionen nach *Brinkman* und *van Dam* haben deutlich nachgewiesen, daß in der von *Gunzburg* gebrauchten üblichen Ringerlösung 35% mehr freie Ca-Ionen vorhanden sind als in unserem Gemisch von NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,007%, welches ebensowenig Ödem gibt wie die 0,01% Kalium haltende Ringerlösung.

4. Mit dem unter 2. und 3. gefundenen Einfluß der Calciumionenkonzentration auf die Permeabilität der Gefäßwand geht ein Einfluß auf die Gefäßweite einher. Durchströmung des Gefäßsystems eines Frosches mit dem Gemisch NaCl 0,6% + $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,01% erzeugt eine so starke Gefäßkontraktion, daß keine Flüssigkeit mehr durchströmt. *Wird dem Gemisch ein wenig KCl hinzugefügt, so fängt die Flüssigkeit wieder zu strömen an. Diese Wirkung ist reversibel.*

5. Der Parallelismus von Gefäßdichtung und Gefäßverengung ist nicht nur bei dem Einfluß von Ca-Ionen, sondern auch unter dem Einflusse von Sauerstoff zu beobachten.

6. Bei Messung der erweiternden oder verengernden Wirkung von Pharmaca nach *Trendelenburg* sollte man auf das Verhältnis der Kalium- und Calciumionen in der Durchströmungsflüssigkeit Rücksicht nehmen.

Bestimmung der relativen Anzahl roter Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve) mittels Na_2SO_4 .

Einfluß der Nahrung auf Resistenz und Regeneration bei Blutungsanämie.

Von

H. J. Hamburger.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 28. Januar 1922.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Einleitung.

Im Jahre 1883 wurde das erste Mal gezeigt, in wie empfindlichem Maße der Farbstoffaustritt aus den roten Blutkörperchen abhängig ist von dem wasseranziehenden Vermögen der Flüssigkeiten, mit denen sie in Berührung gebracht werden¹⁾. Fügt man, um ein Beispiel zu nennen, zu 3 ccm einer 0,51proz. NaCl-Lösung 0,06 ccm Menschenblut hinzu, mischt, läßt das Gemisch $\frac{1}{2}$ Stunde stehen und zentrifugiert, so wird die obenstehende Flüssigkeit farblos sein. Führt man denselben Versuch mit einer etwas schwächeren Salzlösung, z. B. von 0,50% aus, so wird die obenstehende Flüssigkeit rötlich sein, weil nun ein kleiner Teil der Blutkörperchen Farbstoff verloren hat. Das sind die Blutkörperchen, die also am wenigsten resistent sind gegenüber der 0,50proz. NaCl-Lösung. Durch eine solche NaCl-Konzentration pflegt man denn auch die Resistenz gegenüber einer hypotonischen NaCl-Lösung anzugeben. Weiter stellt sich heraus, daß, je schwächer man die NaCl-Lösung nimmt, ein desto größerer Teil der Blutkörperchen ihren Farbstoff verlieren. Schließlich kann man eine NaCl-Lösung ausfindig machen in der keines der Blutkörperchen seinen Farbstoff zurückhält. Diese Salzlösung ist beim Menschen im Mittel 0,36% NaCl und nennt man die **Maximumresistenz**, während die erstgenannte 0,50proz. NaCl-Lösung ein Ausdruck ist der sog. **Minimumresistenz**.

¹⁾ *Hamburger*, Proces-verbaal der Koninklyke Akademie van Wetenschappen te Amsterdam, Zitting van 29. Dec. 1883; 26. Mrt. 1885. Eine deutsche Übersetzung dieser Mitteilung findet man in „Festschrift der Biochemischen Zeitschrift, H. J. Hamburger gewidmet“, Berlin, 1908.

Dank der großen Empfindlichkeit und der leichten Ausführbarkeit hat die Bestimmung der Salzlösung, die gerade den Anfang des Farbstoffaustritts herbeiführt, vielfache Anwendung gefunden, nicht nur von physiologischer, sondern auch von klinischer Seite.

*Van Limbeck*¹⁾ war der erste Kliniker, der bei verschiedenen Krankheiten die Minimumresistenz gesucht hat, d. h. also die NaCl-Lösung, die den Anfang von Farbstoffaustritt verursacht. Nach ihm haben sich sehr viele andere Kliniker, insbesondere französische, mit dem Gegenstand beschäftigt. Leider haben die Resultate bis jetzt nicht der vielen Mühe entsprochen, die man sich für jene Untersuchungen gegeben hat²⁾.

Ich werde auf die Ursachen dieser Enttäuschung nicht eingehen. Der Hauptgrund ist wohl darin gelegen, daß verschiedene Forscher nach verschiedenen Methoden gearbeitet haben, so daß die Resultate nicht miteinander verglichen werden konnten. Ich habe darauf schon hingewiesen in meinem Rapport, ausgesprochen während des Internationalen Medizinischen Kongresses zu Paris im Jahre 1910, und auch in einem Artikel im *Journal de Physiologie*³⁾. So leuchtet es ein, daß *Chauffard* und *Rendu*⁴⁾ beim gesunden Menschen für die Minimumresistenz (initiale Hämolyse) eine NaCl-Lösung von 0,41—0,38% fanden, während *May*⁵⁾ dafür 0,48—0,46% angibt. Und doch pflegt man aus Unterschieden von 0,06% und 0,1% diagnostische Schlußfolgerungen zu ziehen. *Wenn zu klinischen Zwecken Resistenzbestimmungen praktische Bedeutung haben sollen, so muß, ich wiederhole es, Einheit in der Methode bestehen.*

Indessen hat man in den letzten Jahren noch in einer anderen Weise den durch hypotonische Lösungen herbeigeführten Farbstoffaustritt

¹⁾ *Van Limbeck*, Prager med. Wochenschr. 1898, Nr. 28 u. 29.

²⁾ Ich denke hier ausschließlich an diejenigen Untersuchungen, die von klinischer Seite ausgeführt worden sind, und die bezweckten, zu untersuchen, inwieweit verschiedene Krankheiten die Minimumresistenz beeinflussten. Die vorliegende Bemerkung gilt also nicht für diejenigen Fälle, in denen mit Erfolg der Einfluß verschiedener Agenzien auf den Farbstoffaustritt in einem und demselben Blute untersucht wurde. So wurde z. B. mittels des Farbstoffaustritts für das erste Mal das wasseranziehende Vermögen des Serums mit Erfolg ermittelt (1885). Auch wurde der Einfluß von CO₂, Säure und Alkali auf das Blut mittels Hämolyse untersucht. Auch wurde das osmotische Gleichgewicht und die Resorption in serösen Höhlen für das erste Mal mittels Farbstoffaustritts studiert, und noch viele andere Untersuchungen wurden mittels Hämolyse auf physikalisch-chemischem Wege ohne Hilfe der Lehre des osmotischen Druckes ausgeführt. (Man vergleiche meinen Artikel „Isotonie“ in der Dictionaire de Physiologie von *Charles Richet*; ferner „25 Jahre osmotischen Druckes in den medizinischen Wissenschaften“ in „*Janus*“, 1910; und auch den Artikel „Zur Geschichte und Entwicklung der physikalisch-chemischen Forschung in der Biologie“, in der Internat. Zeitschr. f. physik.-chem. Biol., 1, 1, 1914.

³⁾ *Hamburger*, Journ. de Physiologie normale et pathologique, 1900.

⁴⁾ *Chauffard* und *Rendu*, Presse méd. 1907, Nr. 5.

⁵⁾ *Etienne May*, Thèse, Paris 1914.

benutzt, um außer den am wenigsten und am meisten resistenten Blutkörperchen auch diejenigen von dazwischengelegenen Resistenzgraden zu untersuchen. Man hat nämlich *die relative Anzahl Blutkörperchen verschiedener Resistenz* untersucht, die unter physiologischen und pathologischen Umständen im Blute eines Individuums vorhanden ist. Solche Untersuchungen wurden das erste Mal im Jahre 1912 in meinem Laboratorium von *Snapper*¹⁾ ausgeführt und *nicht*, wie *May* in seiner Dissertation vom Jahre 1914 sagt, von ihm²⁾.

Solche Untersuchungen können uns vieles lehren über den *Zerfall und über die Regeneration der Blutkörperchen* im normalen und im kranken Individuum und noch viel mehr.

Die hauptsächlichsten Resultate, die auf diesem Gebiete auch von anderen in unserem Laboratorium gewonnen worden sind, lassen sich in 2 Gruppen teilen:

1. Daß die jungen neugebildeten Blutkörperchen eine höhere Resistenz gegenüber hypotonischen Lösungen als die älteren besitzen [*Hamburger* und *Ubbels*³⁾, *Snapper*⁴⁾, *Brinkman* und *Frl. van Dam*⁵⁾], so daß man aus der relativen Zunahme der Anzahl von sehr resistenten, das sind also die jungen Blutkörperchen, ein Bild des Regenerationsmaßes bekommen kann.

2. Die zweite Gruppe von Tatsachen gipfelt in der Beobachtung *Brinkmans*, daß die Blutkörperchen aus dem Plasma Lipide, in Hauptsache Lecithin, adsorbieren, die durch Auswaschung der Blutkörperchen mit Salzlösungen entfernt werden können, aber auch wieder daran zurückgegeben, und zwar dadurch, daß man die Blutkörperchen wieder mit Serum oder einer anderen lecithinhaltigen Flüssigkeit in Berührung bringt. Nun zeigt es sich, daß Lecithin die Eigenschaft besitzt, die Resistenz der Blutkörperchen zu erniedrigen. Blutkörperchen, die mit einer Salzlösung ausgewaschen worden sind, haben dann auch eine höhere Resistenz als die ursprünglichen, die kurz nach ihrer Freilassung aus dem Knochenmark noch nicht mit einer Plasmaschicht beschickt sind.

Es liegt also auf der Hand, daß Blutkörperchen unmittelbar nach ihrer Bildung aus dem Knochenmark eine größere Resistenz besitzen müssen, als nachdem sie Gelegenheit hatten, eine Lipoidschicht aus dem

¹⁾ *Snapper*, diese Zeitschr. **43**, 256. 1912. Siehe auch Verslagen Koninkl. Akademie van Wetensch. Amsterdam, Zitting v. 29. Juni 1912; es besteht hiervon auch eine englische Übersetzung.

²⁾ *E. May*, Thèse de Paris 1914.

³⁾ *Hamburger* und *Ubbels*, Mütterliches und fötales Blut. Osmotischer Druck und Ionenlehre, **2**, 186. 1904.

⁴⁾ *Snapper*, diese Zeitschr. **43**, 256. 1912. Siehe auch *Snapper*, ebenda **43**, 266. 1913.

⁵⁾ *Brinkman* und *Frl. van Dam*, diese Zeitschr. **108**, 35 u. 61. 1920. Siehe auch Proceedings Koninkl. Akademie v. Wetensch. in Amsterdam, Meeting of 28. Febr. 1920.

Plasma zu adsorbieren. Bekanntlich nennen die Kliniker die Anämien, die ihren Ursprung in Krankheiten des Knochenmarks haben, *primäre*, und die, welche durch eine nachteilige Wirkung des Blutplasmas auf die roten Blutkörperchen entstehen, *sekundäre Anämien*.

Dementsprechend kann man die osmotische Resistenzkurve der roten Blutkörperchen, die in Salzlösungen ausgewaschen sind, die *primäre Resistenzkurve* nennen, während das Resistenzbild der nicht gewaschenen Blutkörperchen als *sekundäre Resistenzkurve* bezeichnet werden kann¹⁾. Vielleicht wird der Leser die Bemerkung machen, daß in beiden Fällen die Resistenz mit Hilfe von Salzlösungen untersucht wird und also auch die Blutkörperchen, von denen das Plasma nicht entfernt ist, und doch auch mit Salzlösung in Berührung kommen. Man vergesse aber nicht, daß bei diesen Blutkörperchen die Hämolyse infolge der Hypotonie schon stattgefunden hat, bevor die Lecithinschicht entfernt sein kann.

Einige Bemerkungen über die Methodik der Resistenzbestimmung²⁾.

Man bringt in einige kleine Reagierröhren gleicher Weite, am liebsten mit eingeschliffenem Glasstöpseln, 3 ccm Salzlösung absteigender Konzentration und läßt in diese Röhren je 0,08 ccm Blut tröpfeln, vermischt, läßt die Gemische während 15–30 Minuten stehen und zentrifugiert während 15 Minuten. Man wird dann beobachten, daß in den ersten Röhren die obenstehende Flüssigkeit farblos ist und in den darauffolgenden bzw. rötlich und rot. In der schwächsten Salzlösung werden alle Blutkörperchen ihren Farbstoff verloren haben, und auf dem Boden werden keine Erythrocyten mehr sichtbar sein. Es kommt nun darauf an, in den Röhren, in denen Hämolyse stattgefunden hat, die *Intensität* der Hämolyse zu bestimmen. Es kann dies geschehen nach einer Methode, deren Prinzip von *Arrhenius* und *Madsen*³⁾ angegeben wurde, und das darin besteht, daß mit einer roten Skala verglichen wird. Um diese Skala anzufertigen, wird in unserem Falle 0,08 ccm Blut in 3 ccm Wasser gebracht. Man sieht dann in diesem Röhren komplette Hämolyse. Der Grad dieser Hämolyse kann mit 100 angegeben werden. Wenn man einen Teil dieser Flüssigkeit mit der gleichen Wassermenge verdünnt, so bekommt man eine Flüssigkeit, die einem Hämolysegrade von 50% entspricht. Stimmt nun, um ein Beispiel zu nennen, die rote Farbe in einer der zu untersuchenden Röhren mit der roten Flüssigkeit überein, in der durch Wasser komplette Hämolyse herbeigeführt worden ist, so sagt man, daß die be-

¹⁾ *Brinkman* und *Frl. van Dam* l. c.

²⁾ Ich werde mich hier möglichst beschränken. Ausführliche Mitteilungen findet man im *Abderhaldenschen Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden* unter dem Titel: Resistenzbestimmung (noch nicht erschienen.)

³⁾ *Arrhenius* und *Madsen*, Zeitschr. f. physik. Chem., 1903.

treffende hypotonische Salzlösung 100% der Blutkörperchen hämolysiert hat. Entspricht in einem anderen Röhrchen die Farbe der durch Abzentrifugierung erhaltenen Flüssigkeit der des soeben angefertigten Blut-Wassergemisches von 50%, so hat die untersuchte hypotonische Salzlösung 50% der Erythrocyten hämolysiert. In dieser Weise kann man nach einer einfachen Methode bestimmen, wieviel Prozent der im Blut vorhandenen Blutkörperchen durch verschiedene hypotonische Salzlösungen zugrunde gegangen sind, m. a. W. *wie groß die relative Zahl von Blutkörperchen verschiedener Resistenz ist.*

Dies ist das Prinzip, das wir bald mit einigen Beispielen illustrieren werden.

Es handelt sich nun um die *höchst wichtige Frage*: Mit welcher Salzlösung muß die Resistenz ermittelt werden? Diese Frage gilt auch der Flüssigkeit, mit der die Blutkörperchen behufs Bestimmung der primären Resistenz deplasmatisiert werden müssen.

Die Flüssigkeit, mit der die Blutkörperchen ausgewaschen und untersucht werden müssen (reine Kochsalzlösung, Kaliumoxalat, äquilibrierte Salzlösung, Natriumsulfat).

Bekanntlich hat man lange Zeit die NaCl-Lösung, welche mit dem Serum (Blutkörperchen) isotonisch ist, die als meist physiologische künstliche Flüssigkeit betrachtet.

In der Tat behalten die Blutkörperchen in solch einer isotonischen Flüssigkeit dasselbe Volum, das sie im Serum besitzen, wie ich bereits 1893¹⁾ nachwies. Aber 1889²⁾ war schon gezeigt, daß in solch einer isotonischen NaCl-Lösung die Blutkörperchen ihre normale Zusammensetzung nicht behalten; es findet ein Austausch statt zwischen dem einwertigen Cl-Ion der Umgebung und den zweiwertigen Ionen³⁾ des Blutkörpercheninhaltes, zumal von HPO_4' . Da aber für jedes zweiwertige Ion, das austritt, 2 Chlorionen eintreten müssen und bekanntlich jedes Ion ungeachtet, ob es einwertig oder zweiwertig ist, dasselbe wasseranziehende Vermögen besitzt, wird der in genannter Weise geänderte Blutkörpercheninhalt mehr Wasser anziehen können, als der normale Inhalt und der Blutfarbstoff folglich leichter austreten lassen. Es ging dies u. a. hervor aus Gefrierpunktbestimmungen der Flüssigkeiten, die gerade noch keinen Farbstoffaustritt veranlaßten⁴⁾.

NaCl-Lösung	$A = - 0,335^\circ$
KNO_3 -Lösung	$A = - 0,330^\circ$
Na_2SO_4 -Lösung	$A = - 0,287^\circ$
Rohrzuckerlösung	$A = - 0,280^\circ$

Man sieht, daß, wenn die umgebende Flüssigkeit eine NaCl- oder KNO_3 -Lösung ist, die Konzentration dieser Salzlösung, welche mit dem Blutkörpercheninhalt in Gleichgewicht steht, ein größeres wasseranziehendes Vermögen besitzt, als wenn

¹⁾ *Hamburger, Zentralbl. f. Physiol.*, 17. VI. 1893.

²⁾ *Hamburger, Zeitschr. f. Biol.* 1889, S. 414; 1891, S. 405.

³⁾ Mit *Koepppe* meinte ich, daß das zweiwertige Ion hier hauptsächlich das CO_3 -Ion war; aber in der letzten Zeit hat es sich herausgestellt, daß die Kohlensäure im Serum und in den Blutkörperchen als HCO_3 -Ion vorhanden ist.

⁴⁾ *Hamburger, Osmotischer Druck und Ionenlehre*, I, 237.

man Rohrzucker gebraucht, eine Substanz, bei der von Ionenaustausch nicht die Rede ist.

Was bei Rohrzucker beobachtet wurde, sieht man auch bei Na_2SO_4 , weil, obgleich Austausch von Anionen stattfindet, das wasseranziehende Vermögen (osmotische Konzentration) des Blutkörpercheninhalts unverändert bleibt.

Bereits diese Tatsache würde eine Veranlassung sein müssen, um das Na_2SO_4 mehr indifferent gegenüber dem Blutkörpercheninhalt zu betrachten als das NaCl . Wir kommen auf unsere Wahl des Na_2SO_4 für die Resistenzbestimmung noch zurück.

Gegen den Gebrauch von NaCl für die Resistenzbestimmung sind noch mehr Schwierigkeiten erhoben worden. Zu diesen Beschwerden müssen insbesondere die gerechnet werden, welchen man begegnet bei der *Auswaschung* der roten Blutkörperchen mit dieser Flüssigkeit. Ein Beispiel dürfte das deutlich machen.

Man sucht eine NaCl -Lösung, in der die Blutkörperchen, z. B. des Menschen, keinen Farbstoff verlieren. Es sei diese Flüssigkeit eine 0,52proz. NaCl -Lösung. Man zentrifugiert, hebt die obenstehende Flüssigkeit ab und ersetzt diese durch eine neue 0,52proz. NaCl -Lösung. Man wiederholt diese Manipulation und wird dann sehen, daß jetzt die obenstehende 0,52proz. NaCl -Lösung rötlich geworden ist. Wiederholt man diesen Versuch, so wird bei jeder Auswaschung die NaCl -Lösung mehr gefärbt werden, während doch das erste Mal die NaCl -Lösung farblos war. Man sieht also, daß wiederholte Auswaschung mit dieser Salzlösung die Blutkörperchen nicht unversehrt läßt.

Die Ursache dieser Erscheinung und die Mittel, dieser zu begegnen, sind in unserem Laboratorium untersucht worden. Bereits im Jahre 1908 wies ich nach, daß, im Gegensatz zu der damals landläufigen Meinung, die roten Blutkörperchen Ca enthalten¹⁾. Weiter wurde dann von *Snapper*²⁾ gefunden, daß man bei der Auswaschung mit NaCl -Lösung Fehler macht, denen durch Zusatz von ein wenig Ca zu der NaCl -Lösung wenigstens teilweise vorgebeugt werden konnten. Später stellte sich aus systematischen Untersuchungen von *Brinkman*³⁾ heraus, daß die Ca -Menge, welche hinzugefügt werden sollte, nicht zu groß sein darf und nur schwanken darf zwischen nicht weit voneinander liegenden Grenzen (0,015—0,025 $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq.}$ d. h. zwischen 0,001—0,0015% freien Ca -Ionen)⁴⁾. Diese Erscheinung gilt nicht nur für die Auswaschung der Blutkörperchen, sondern auch für die Feststellung der Resistenzkurve.

¹⁾ *Hamburger*, Zeitschr. f. physik. Chem. **69**, 1908; Festschrift für Prof. *Arrhenius* 1908.

²⁾ *Snapper*, diese Zeitschr. **43**, 266. 1912.

³⁾ *Brinkman*, diese Zeitschr. **95**, 101. 1919.

⁴⁾ Eine zu kleine und auch eine zu große Ca -Menge befördert die Hämolyse oder anders gesagt, macht die Blutkörperchen mehr fragil und zwar wahrscheinlich durch den Einfluß des Lecithins. *Neuschloß* (Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **181**, 17. 1920) hat gefunden, daß eine zu große Menge von Ca -Ionen denselben Einfluß auf die Oberflächenspannung einer Emulsion von Lecithin und NaCl -Lösung hat als eine zu kleine. Die Grenzen liegen sehr nahe beieinander.

Bereits eine ähnliche Beobachtung war bei dem Glomerulusepithelium gemacht worden¹⁾. Was hatte sich dabei herausgestellt? Daß dies allein dann Glucose zurückzuhalten vermag, wenn die durch die Glomeruluscappillare strömende Flüssigkeit eine Ca-Konzentration enthält, die innerhalb naher Grenzen schwankt.

Eine analoge Erscheinung wurde im hiesigen Laboratorium beobachtet, bei den bei Reizung des Nervus vagus²⁾ entstehenden Magenbewegungen und bei der Bewegung des Rectums³⁾. Man sieht also, daß die Zellen, will man sie in einem normalen Zustand behalten, von einer Flüssigkeit umgeben sein müssen, die einen bestimmten Gehalt an Ca besitzt, oder genauer gesagt, einen bestimmten Ca-Ionen-gehalt, denn auf die Ionen kommt es an.

Um eine solche Flüssigkeit zu bekommen, würde es auf der Hand liegen, ein Flüssigkeitsgemisch zu bereiten, das dem Ultrafiltrat entspricht. Eine genaue quantitative Analyse des Ultrafiltrates ist aber nicht so einfach. Deshalb ist zu unserem Zweck ein anderer Weg befolgt worden, auf den ich hier nicht eingehen werde. Für die Blutkörperchen von Mensch und Kaninchen wurde die folgende Lösung angefertigt: NaCl 0,7%, $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{ aq}$ 0,04%, KCl 0,02%, NaHCO_3 0,18%, mit einer Wasserstoffionenkonzentration von $0,45 \cdot 10^{-7}$.

Die Wasserstoffionenkonzentration kann auf dieser Höhe gehalten werden durch Einblasung von ein wenig CO_2 und kontrolliert werden mittels Neutralrots als Indicator. Die Farbe muß dieselbe werden wie die, welche dadurch erhalten wird, daß man ein Gemisch von 1,5 ccm einer Lösung von 9,078 g K_2HPO_4 in 1 l Wasser und von 8,5 ccm einer Lösung von 11,87 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2 \text{ aq.}$ in 1 l Wasser mit Neutralrot beschickt (Sørensen)⁴⁾.

Man kann von dieser Flüssigkeit den Grad der Hypotonie ändern, indem die NaCl-Menge modifiziert wird. Dabei bleibt, wie gesagt, der Ca-Ionen-gehalt nahezu unverändert. Spielt ja im genannten Gemisch das NaHCO_3 die Rolle eines Puffers, wie hervorgeht aus der Formel von Rona und Takahashi $(\text{Ca}') = k \cdot \frac{[\text{H}]}{[\text{HCO}_3']}$, in der K eine Konstante und $= 350$.

Wie ersichtlich, ist der Ca-Ionen-gehalt proportional mit der H-Ionen-gehalt und umgekehrt proportional mit der HCO_3 -Ionenkonzentration. Man kann diese beiden Ionen gegenüber einander variieren, ohne daß der Ca-Ionen-gehalt davon beeinflusst wird.

Äquilibrierte Lösungen wie diese zeigten sich auch für andere Zellen als die meist zweckmäßige künstliche Flüssigkeit. So wurden sie z. B. benutzt bei dem Studium der Magenbewegungen, die bei der Reizung des N. vagus entstehen⁵⁾.

¹⁾ Hamburger und Brinkman, Proceed. Koninkl. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam, **19**, 989, 997. 1917; **20**, 668. 1918; diese Zeitschr. **85**, 97. 1918; **94**, 129. 1919; Brit. med. Journ., March 8, 1919.

²⁾ Brinkman en Mej. van Dam, Koninkl. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam, Zitting von 18. Dez. 1920.

³⁾ Brinkman und van Creveld, noch nicht publiziert. Demonstration von van Creveld, auf dem Physiologentag zu Amsterdam, 22. Dez. 1921.

⁴⁾ Sørensen, Comptes rendus de Carlsberg, 7me et 8me vol., 1907 et 1910; siehe auch Neuberg, Der Harn **2**, 1396. 1911; weiter diese Zeitschr. **21**, 130. 304.

⁵⁾ Brinkman und Mej. van Dam, Koninkl. Akad. v. Wetensch. te Amsterdam, Zitting v. 18. Dez. 1920.

und bei den Untersuchungen über die Bewegung des Rectums¹⁾. Man sieht, ich wiederhole es, daß die Zellen, um dieselben im normalen Zustande zu erhalten, von einer Flüssigkeit umgeben sein müssen, die jedenfalls einen bestimmten Ca-Ionen-gehalt besitzen muß.

Es fragt sich nun, worin besteht dieser Einfluß von Ca-Ionen. Kolloidchemische Untersuchungen haben gelehrt, daß Na auf die oberflächliche Schicht der Blutkörperchen einen erweichenden (lyotropen) Einfluß ausübt und dadurch die Hämolyse befördert (Höber). Weiter hat es sich herausgestellt, daß Ca einen antagonistischen Einfluß auf diese Erweichung ausübt und dadurch den hämolysebefördernden Einfluß des NaCl neutralisieren kann.

Von welcher Bedeutung das $[Ca^{++}]$ für den Grad der Hämolyse ist, geht u. a. hervor aus einer Erfahrung von Brinkman²⁾. Wenn durch eine reine NaCl-Lösung ein Beginn der Hämolyse herbeigeführt worden ist, so zeigt sich die Hämolyse eigentlich verschoben, weil bei dem Blutfarbstoffaustritt zu gleicher Zeit Ca freigekommen ist, m. a. W., das freigekommene Ca bewirkt, daß eine Anzahl von roten Blutkörperchen, die eine reine NaCl-Lösung von bestimmter Hypotonie nicht mehr ertragen würden, ohne zu hämolysieren, das jetzt wohl tun.

Je schwächer die NaCl-Lösung ist, desto mehr Ca kommt frei, und desto größer ist die Verschiebung. In überzeugender Weise wird dies deutlich gemacht durch Abb. 6. Man sieht, wie ganz anders der Charakter der Resistenzkurve ist, wenn dieselbe mittels einer reinen NaCl-Lösung bestimmt wird, als wenn äquilibrierte Salzlösungen, Lösungen, also mit konstanter Ca-Ionenkonzentration und verschiedenem NaCl-Gehalt, gebraucht werden.

Mit Hinsicht auf obenstehende Erörterungen wird man nun geneigt sein, statt der bis jetzt gebrauchten NaCl-Lösung, die beschriebenen äquilibrierten Salzlösungen weiter zu verwenden, Salzlösungen also in den durch ein Puffersystem eine richtige Ca-Ionenkonzentration versichert wird. Jedoch ist das Arbeiten mit diesen Lösungen nicht einfach und bequem; insbesondere wird viel Übung erfordert, um die Flüssigkeit anzufertigen. Deshalb habe ich mich gefragt, ob nicht eine einfachere Flüssigkeit benutzt werden könnte, um dasselbe zu erzielen, was Brinkman mit den äquilibrierten Salzlösungen erreicht hat. Diese Flüssigkeit war eine Lösung von Na_2SO_4 .

Der Ausgangspunkt für die Wahl des Na_2SO_4 war in meinen obenerwähnten Versuchen gelegen (S. 167). Bei näherer Betrachtung aber drängen sich außer dem Ionenaustausch noch andere Überlegungen auf. Um nicht zu ausführlich zu werden, sei hier nur auf 2 Punkte hingewiesen. In erster Linie fragt man sich, ob dann nicht

¹⁾ Brinkman und v. Creveld, noch nicht publiziert.

²⁾ Brinkman, diese Zeitschr. 95, 101. 1919.

das Na des Na_2SO_4 einen lyotropen Einfluß ausübt. Das wird wohl der Fall sein, aber man muß dabei an einen neutralisierenden Einfluß des SO_4 -Ions denken. Ferner hat man zu denken an die besondere Bedeutung der elektrostatischen¹⁾ Wasseranziehung von SO_4 als zweiwertiges Ion.

Doch abgesehen von allen theoretischen Erwägungen darf man konstatieren, daß sowohl für die Auswaschung wie für die Bestimmung der osmotischen Resistenz das Na_2SO_4 dieselben Resultate gibt wie die theoretisch einwandfreie und wohlbegründete äquilibrierte Ringerlösung, wie auch das Ultrafiltrat des Serums.

Mit dem durch *Widal* und seine Schüler²⁾ gebrauchten Kaliumoxalat ist das *nicht der Fall*. Das Oxalat-Ion bindet das Ca und ist nicht imstande, die lyotrope Wirkung des Na zu neutralisieren. Diese lyotrope Wirkung geht deutlich hervor aus der Bemerkung von *May* in seiner Dissertation über die Bestimmung der Resistenzkurve, daß man, nachdem das Blut in Oxalat aufgefangen worden ist sofort zentrifugieren muß, „da sonst die Blutkörperchen mehr fragil werden“. Es liegt also auf der Hand, daß dieses Salz nicht benutzt werden kann um die primäre Resistenzkurve zu bekommen; dabei muß ja die Resistenz immer höher sein als bei den ursprünglich mit Plasma bedeckten Blutkörperchen. Übrigens stellt sich auch heraus, daß weder *Widal* noch dessen Schüler *May* solch eine Steigerung der Resistenz beobachtet haben, wie sie in unserem Laboratorium bei der Anwendung einer äquilibrierten Salzlösung oder einer Lösung von Na_2SO_4 gefunden wird.

Fügen wir noch hinzu, daß die beiden Autoren nach *Auswaschung* mit Kaliumoxalat die Resistenzkurven mittels reiner NaCl Lösung bestimmen, die, wie im hiesigen Institut von *Snapper* und auch von *Brinkman* gezeigt wurde, ungenaue Resultate liefert.

Bevor wir mit der Beschreibung einiger Versuche mit Na_2SO_4 -Lösungen weiter gehen, wollen wir *mit Nachdruck darauf hinweisen, daß sogar das Na_2SO_4 „pro Analyse“ zuweilen sauer reagiert*, wahrscheinlich durch NaHSO_4 . Man sieht dann die roten Blutkörperchen braungrau durch Zersetzung des Hämoglobins. Deshalb ist es nötig, dafür zu sorgen, daß die Stammlösung mit ein wenig einer 5 proz. NaHCO_3 -Lösung neutralisiert werde; man gebrauche Neutralrot als Indicator. Wenn man die isotonischen und hypotonischen Na_2SO_4 -Lösungen vorrätig zu halten wünscht um diese jedem Augenblick verwenden zu können, so empfiehlt es sich, sie in Flaschen aufzubewahren, die mit einem Abflußrohr beschickt sind. Bei dem Abfließen geht jedoch Luftkohlensäure in die Flasche über. Wenn es auf große Genauigkeit an-

¹⁾ *H. Loeb*, Science **53**, 77. 1921.

²⁾ *Widal*, *Abrami* und *Brulé*, Presse méd., Okt. 1907. Siehe auch *May*, l. c.

kommt, ist das eine Beschwerde. In diesem Fall empfiehlt es sich, die in die Flasche eingesaugte Luft durch Natronlauge streichen zu lassen.

Wie gelegentlich *Brinkman* bemerkte, würde man auch ein anderes zweiwertiges Anion als SO_4 benutzen können und zwar HPO_4 . Zu diesem Zweck nimmt man das Sörensche Salzgemisch, das besteht aus Na_2HPO_4 und KH_2PO_4 . Ich fand, daß die Flüssigkeit, welche 16,302 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{aq}$ und 2,192 g KH_2PO_4 im Liter Wasser aufgelöst enthält, neutral reagiert mit Neutralrot und isotonisch ist mit den Blutkörperchen von Kaninchen und Mensch. Sie gab uns Resultate, die mit den durch Na_2SO_4 erhaltenen vorzüglich stimmten.

Genanntes Phosphatgemisch hält sich trotz Einwirkung von ziemlich viel Kohlensäure neutral. Hier ist also eine Vorrichtung um CO_2 zurückzuhalten überflüssig. Aber, wie ich sagte, in Versuchen wie die unsrigen mit den Na_2SO_4 -Lösungen ist die Anwesenheit von nicht allzugroßen CO_2 -Mengen unschädlich und bleibt es also einfacher, dieses Salz zu verwenden, als das Phosphatgemisch, das auch „pro Analyse“ sein soll.

Einige Versuche über den Gebrauch von Na_2SO_4 für Probleme über die Regeneration von Blutkörperchen nach Blutung.

Von den mit Na_2SO_4 angestellten Versuchen werde ich nur diejenigen mitteilen, welche den Einfluß der Nahrung auf die Regeneration nachgewiesen haben.

Bei 2 jungen Kaninchen von 100 g wurde 25 ccm resp. 20 ccm Blut entnommen. Dann empfingen sie verschiedene Nahrung. Das eine erhält neben Gras auch Hafer; wir nennen der Kürze halber dieses Tier „*Haferkaninchen*“. Das andere Tier bekommt ausschließlich Gras und wird mit „*Graskaninchen*“ bezeichnet.

Die Überlegung dieser Versuchsweise war folgende. Die Ursache der Resistenzsteigerung, die bei Auswaschung von Blutkörperchen mit einer äquilibrierten Salzlösung stattfindet (siehe oben S. 165), hatte gelehrt, daß die Blutkörperchen, wenn sie sich im Plasma befinden, von einer lipoidhaltigen Schicht bedeckt sind, welche die Resistenz erniedrigt. Nachdem diese Schicht abgewaschen ist, kann sie wieder aus Serum adsorbiert werden¹⁾.

Die hämolysierende Kraft dieser Schicht findet einen Ausdruck im Quotient $\frac{\text{Cholesterin}}{\text{Lecithin}} \text{ oder } \frac{\text{Cholesterin}}{\text{freie Fettsäure}}$ (Coefficient lipocyttique von *Mayer* und *Schaeffer*). Es schien nun interessant, mittels Na_2SO_4 -Lösung zu untersuchen, inwieweit dieses Verhältnis abhängig sein würde von der Nahrung des Tieres, und ob eventuelle Veränderungen in der Nahrung auch Modifikationen in der Resistenz oder in der Regeneration herbeiführen würden.

Durch Untersuchungen von *Bloor*²⁾ und seinen Schülern, von *Mayer*³⁾ und *Schaeffer*³⁾ und *Terroine*⁴⁾, und weiter von *Wacker* und *Hueck* usw.⁵⁾, kann es wohl

¹⁾ *Brinkman* und *van Dam*, Studien zur Biochemie der Phosphatide und Sterine, I., II., III. Diese Zeitschr. **108**, 1920.

²⁾ *Bloor*, Journ. of Biol. Chem. **25**, 5, 77. 1916.

³⁾ *Mayer* und *Schaeffer*, Journ. de Physiol. et de Pathol. Générale **16**, 1 u. 23. 1914.

⁴⁾ *Terroine*, ebenda **16**, 386. 1914.

⁵⁾ *Wacker* und *Hueck*, diese Zeitschr. **100**, 84. 1919; *Lindemann*, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäkol **74**, 814. 1913.

als festgestellt betrachtet werden, daß beim Kaninchen der genannte Coefficient lipocytyque von *Mayer* und *Schaeffer* durch die Ernährung beherrscht wird. Nun hatte sich bei der Auswaschung der Blutkörperchen mittels der äquilibrierten Salzlösungen (*Brinkman* und *van Dam*)¹⁾ herausgestellt:

1. daß bei hungernden Kaninchen die Resistenz gesteigert und die Regeneration sehr klein war;

2. daß Zusatz von Lecithin zu der Nahrung intravitale Hämolyse herbeiführte und andererseits eine sehr intensive Regeneration herbeiführte.

Diese Tatsachen wurden dadurch erklärt, daß beim Hungern die Lipidkonzentration zu klein war und also die Blutkörperchen sich verhielten als ob durch Auswaschung des Lecithins die Resistenz gesteigert war. Weiter blieb nach der Blutung jede Regeneration aus, wie auch die primären Resistenzkurven deutlich zeigen. Durch Zugabe von Lecithin ex ovo erhielten die Blutkörperchen wieder eine Resistenz erniedrigende, hämolysebefördernde Oberfläche; aber das Knochenmark wurde zu einer kräftigeren Tätigkeit gereizt.

War diese Überlegung, daß nämlich die Blutveränderung in hohem Maße von der Lipoidernährung abhängig ist, richtig, so würde auch ein kalorisch genügendes, aber fettarmes Diät (Gras) dieselben Erscheinungen veranlassen wie das Hungern.

Das Entgegengesetzte, ein lipoidreiches Diät, konnte leicht durch Zusatz vom Hafer zu Gras erreicht werden.

Diese Vorstellung fand eine Stütze in den im hiesigen Institut von *K. J. Feringa* ausgeführten Blutkörperchenzählungen; er fand nämlich, daß Kaninchen, die im Sommer fast ausschließlich mit Gras gefüttert werden, nach Blutung kaum Regeneration zeigen, aber daß Zusatz von Hafer unmittelbar Steigerung der Blutkörperchenzahl zur Folge hat.

Für die jetzt folgenden Versuche wurden *junge Kaninchen* genommen. Es wird sich aus den Resultaten herausstellen, daß Graskaninchen nur wenig auswaschbares Lipoid an ihren Blutkörperchen besitzen, Haferkaninchen dagegen viel. Es ist dies insbesondere deutlich, wenn man z. B. die Beobachtungen am 5. Tage des Versuches bei beiden Kaninchen miteinander vergleicht: Bei den Graskaninchen besteht wenig Differenz in der Resistenz zwischen dem nichtgewaschenen und dem gewaschenen Blute, bei den Haferkaninchen ein großer. Die erwarteten Unterschiede in der Regeneration sind denn auch nicht ausgeblieben.

Bevor wir die Versuche mitteilen, wollen wir noch darauf hinweisen, daß in allen hier folgenden Kurven die Regenerationerscheinungen in den sog. *primären Resistenzkurven am deutlichsten* zu beobachten sind und mit den Resultaten der Volumbestimmungen der Blutkörperchen sehr gut übereinstimmen.

Um nämlich den Verlauf der Regeneration zu kontrollieren, sind (statt Zählungen) Volumbestimmungen der roten Blutkörperchen in 0,08 ccm Blut angestellt worden.

Diese Bestimmungen wurden dadurch ausgeführt, daß jeden Tag ein wenig Blut in einem geschlossenen mit Glasperlen versehenen Röhrchen defibriert wurde und durch Filtrierpapier filtriert. Dann wurden 2 ccm einer isotonischen

¹⁾ *Brinkman* und *van Dam*, diese Zeitschr. **108**, 61. 1920.

Na_2SO_4 -Lösung ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ von 3%) in das Trichterchen eines Chonohämatokrites¹⁾ gebracht und mit 0,08 ccm dieses defibrinierten Blutes beschickt. Jetzt wurde so lange zentrifugiert, bis das Volum des Sedimentes konstant geworden

Haferkaninchen (1. Tag)²⁾.

Blutentnahme ± 25 ccm. Resistenzbestimmung mittels $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösungen.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	5
1,75	10	10
1,50	35	30
1,25	75	60
1,00	100	75
0,75	100	80

Aus diesem Versuch ist bereits gleich zu sehen, daß die Blutkörperchen durch Waschung viel resistenter werden. Volumbestimmung der Blutkörperchen in 0,08 ccm Blut haben den ersten Tag nicht stattgefunden.

Graskaninchen (1. Tag).

Blutentnahme ± 20 ccm. Resistenzbestimmung mittels $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösungen.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	0
1,75	3	3
1,50	40	30
1,25	70	60
1,00	95	85
0,75	100	90

Die gewaschenen Blutkörperchen sind auch hier resistenter. Volumbestimmung der Blutkörperchen in 0,08 ccm Blut hat auch hier den ersten Tag nicht stattgefunden.

(Haferkaninchen 2. Tag).

Resistenzbestimmung wie oben.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	0
1,75	1	0
1,50	25	18
1,25	80	75
1,00	100	85
0,75	100	95

Auch hier Steigerung der Resistenz durch Auswaschung.

Volumbestimmung in 0,08 ccm defibrinierten Blutes in 2 ccm Na_2SO_4 -Lösung von 3% 39,5 und 38,5 Teilstriche, nach zweistündiger Zentrifugierung; im Mittel **39** Teilstriche.

Graskaninchen (2. Tag).

Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	0
1,75	0	1
1,50	15	25
1,25	70	80
1,00	98	95
0,75	100	95

Hier ist der Unterschied im gewaschenen und ungewaschenen Zustande nicht so groß mehr, *höchstwahrscheinlich weil hier wenig Regeneration ist.*

Volumbestimmung wie oben; im Mittel **47,25** Teilstriche.

¹⁾ *Hamburger*, Journ. de Physiol. normale et path. 1900; diese Zeitschr. **1**, 263. 1906; **76**, 415. 1915. Proceedings Koninkl. Akad. v. Wetenschappen Amsterdam, 28. Apr. 1916 (englisch).

²⁾ Um die in den Tabellen verzeichneten Resultate übersichtlich darzustellen, sind sie noch in Kurven gebracht (S. 176 f.).

war. Das mittlere Volum aus 2 Versuchen wurde als Volum der Blutkörperchen von 0,08 ccm Blut betrachtet. Der capillare Teil der Röhren hat einen Inhalt von 0,04 ccm; dieser Raum ist in 100 gleiche Teile geteilt; jede Verteilung besitzt also ein Volum von 0,0004 ccm.

Man wird aus den unter jedem Versuche mitgeteilten Zahlen ersehen, daß die durch die Resistenzbestimmung gefundenen Regenerationen mit den durch Volumbestimmungen ermittelten Zahlen parallel gehen.

Haferkaninchen (3. Tag).

Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% -Na ₂ SO ₄ · 10 aq	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 8%
2,00	0	0
1,75	1	0
1,50	20	3
1,25	75	55
1,00	95	80
0,75	100	90

Hier hat eine deutliche Regeneration stattgefunden. Diese ist nicht nur bei den gewaschenen, sondern auch bei den nichtgewaschenen Blutkörperchen zu beobachten.

Volumbestimmung wie oben; im Mittel **43,25** Teilstriche.

Graskaninchen (3. Tag).

Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% -Na ₂ SO ₄ · 10 aq	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 8%
2,00	0	0
1,75	0	0
1,50	15	10
1,25	60	60
1,00	98	95
0,75	100	100

Volumbestimmung wie oben; im Mittel **42** Teilstriche.

Haferkaninchen (4. Tag).

Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% -Na ₂ SO ₄ · 10 aq	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 8%
2,00	0	0
1,75	1	0
1,50	10	3
1,25	70	20
1,00	90	75
0,75	100	90

Stets noch eine steigende Resistenz gegenüber den vorhergehenden Tagen.

Volumbestimmung wie oben; im Mittel **53,75** Teilstriche.

Graskaninchen (4. Tag).

Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% -Na ₂ SO ₄ · 10 aq	% -Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 8%
2,00	0	0
1,75	0	0
1,50	12	1
1,25	65	45
1,00	95	80
0,75	100	95

Volumbestimmung wie oben; im Mittel **44** Teilstriche.

*(Haferkaninchen 5. Tag.)*Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	0
1,75	0	0
1,50	10	1
1,25	65	20
1,00	85	60
0,75	100	85

*Graskaninchen (5. Tag.)*Blutentnahme ± 6 ccm. Resistenzbestimmung wie oben.

% $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$	% Hämolyse	
	unge- waschen	gewaschen mit- tels Sulfatlösung von 3%
2,00	0	0
1,75	2	0
1,50	15	20
1,25	70	60
1,00	95	80
0,75	100	95

Volumbestimmung wie oben; im Mittel 56 Teilstriche.

Volumbestimmung wie oben; im Mittel 51,75 Teilstriche.

Um die Resultate der beschriebenen Versuche mehr übersichtlich anzugeben, sind sie in Diagrammen gebracht.

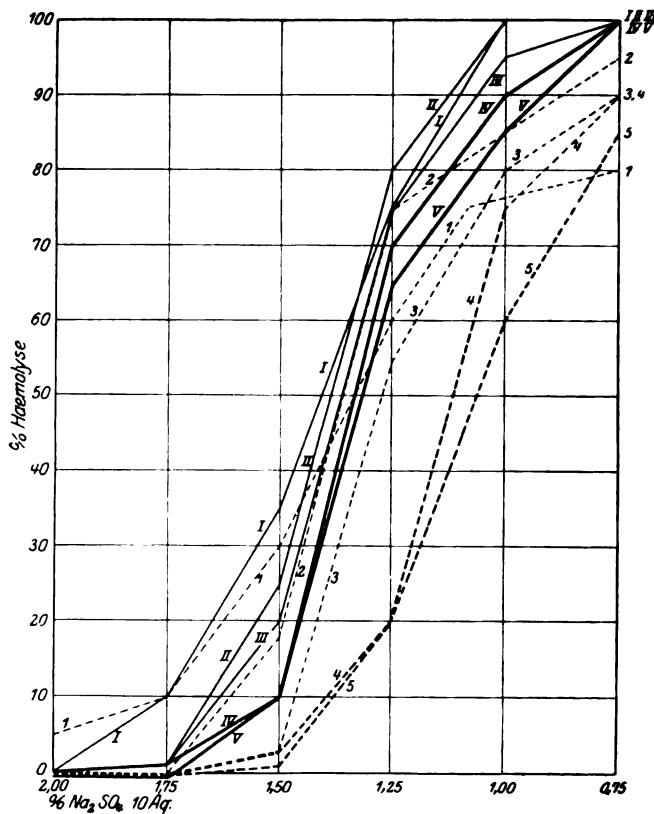


Abb. 1. Haferkaninchen 1.—5. Tag.

— nicht gewaschene Blutkörperchen. - - - gewaschene Blutkörperchen.

Hierzu sei bemerkt, daß die Versuche von verschiedenen Tagen bei einem und demselben Tiere in einer Abbildung zusammengefügt worden sind; sie sind aber voneinander zu unterscheiden durch die Art der Linien.

In Abb. 1 und 3 ist der Grad der Hämolyse angegeben, wie dieser direkt aus der Tabelle hervorgeht. In den Abb. 2 und 3 ist die Zahl der Blutkörperchen einer bestimmten Resistenz *separat* angegeben worden. Die Konstruktion und die Bedeutung der Abb. 2 und 4 dürften durch das folgende Beispiel verdeutlicht werden.

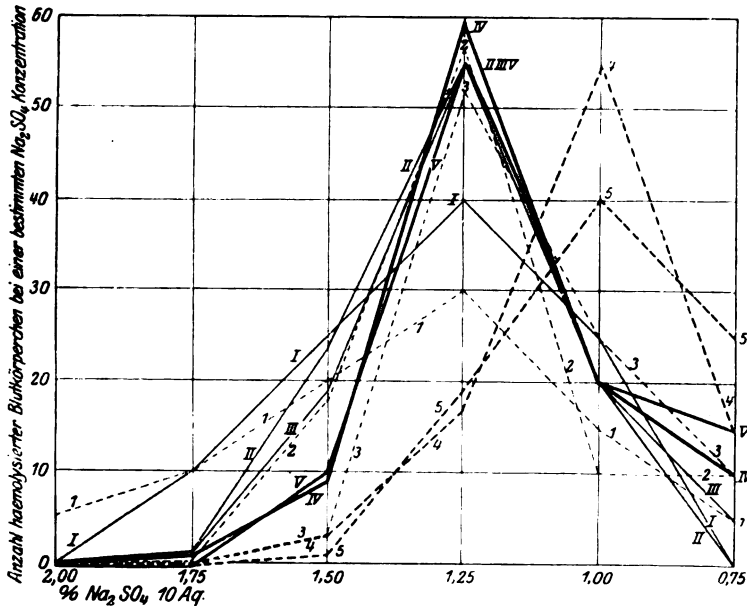


Abb. 2. Haferkaninchen 1.-5. Tag.

— nicht gewaschene Blutkörperchen. - - - gewaschene Blutkörperchen.

Man sieht aus der Tabelle I (Haferkaninchen nach einem Tage), daß von den nichtgewaschenen Blutkörperchen 35% hämolysiert sind durch $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösung von 1,50% und 75% durch eine $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösung von 1,25%. Hieraus geht hervor, daß 40% der Blutkörperchen einer Na_2SO_4 -Lösung von 1,25% entsprechen. Es findet dies seinen Ausdruck im höchsten Gipfel der durchgehenden Linie von Abb. 2. Von den ausgewaschenen Blutkörperchen (punktirierte Linie) sind nahezu $60 - 30 = 30\%$ widerstandsfähig gegenüber einer Sulfatlösung von 1,25%.

Man sieht, daß man in dieser Weise ein gutes Bild vom Resistenzgrade jeder der einzelnen Blutkörperchensorten bekommt. Es liegt auf der Hand, daß die Summe der Prozentzahlen immer 100 betragen wird.

Betrachten wir Abb. 1 etwas näher. Es handelt sich hier um ein *Haferkaninchen* (1. bis 5. Tag). In dieser Abbildung geben die *vollen Linien* die *ungewaschenen* und die *gebrochenen Linien* die *gewaschenen*

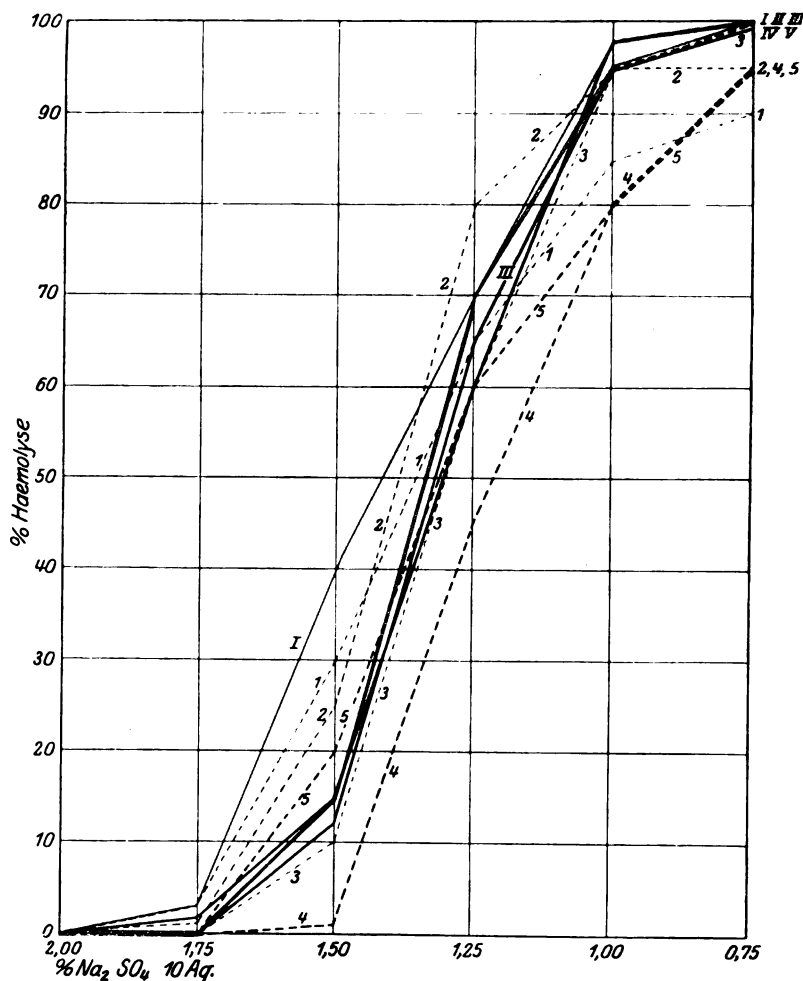


Abb. 8. Graskaninchen 1.—5. Tag.
nicht gewaschene Blutkörperchen. — — gewaschene Blutkörperchen.

Blutkörperchen an. Der 1. Tag ist durch eine *dünne* Linie markiert, die folgenden Tage mit *immer dickeren*. Zum Überfluß sind die *nicht-gewaschenen* Blutkörperchen mit *römischen* Ziffern und die *gewaschenen* mit *arabischen* Ziffern angegeben. Man sieht eine steigende *Regeneration*. So z. B. liegt das ganze Beobachtungsfeld des 5. Tages niedriger, als es die vorhergehenden Tage tun. Das nämliche ist der Fall mit dem

4. Tag gegenüber dem 3. usw. Insbesondere fällt dies deutlich auf, wenn man dieselbe Art Kurve des Graskaninchens damit vergleicht (Abb. 3). Hierbei haben fast alle Linien denselben Verlauf, also gibt es wenig Regeneration; die *gewaschenen* Blutkörperchen des Haferkaninchens zeigen dies in noch stärkerem Maße (die gebrochene Linie in Abb. 1), während dies bei dem Graskaninchen (Abb. 3, gebrochene Linie) fast nicht oder sehr wenig der Fall ist.

Bei der Betrachtung von Abb. 2 und 4, die die relative Zahl der Blutkörperchen angeben, welche bei einer bestimmten Na_2SO_4 -Konzentration

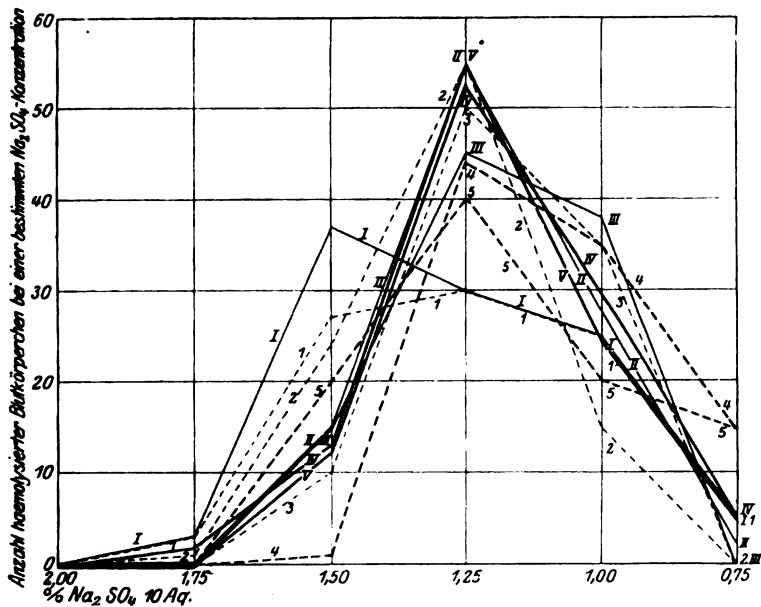


Abb. 4. Graskaninchen 1.—5. Tag.
— nicht gewaschene Blutkörperchen. - - - gewaschene Blutkörperchen.

noch hämolysieren, ist dies auch deutlich zu beobachten, d. h. eine starke Regeneration beim *Haferkaninchen* (Abb. 2) und die fast nicht vorhandene Regeneration beim *Graskaninchen* (Abb. 4).

Die höchsten Gipfel von Abb. 2 werden am 4. und 5. Tage (punktierter Linie 4 und 5) sogar ganz nach einer anderen Konzentration von Na_2SO_4 (von 1,25% nach 1,00%) übergebracht, während dies in Abb. 4 nicht der Fall ist.

Auch die *Anzahl* der Blutkörperchen, welche bei einer 1,00proz. $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq.}$ -Lösung zugrunde geht, ist beim *Haferkaninchen* viel geringer als beim *Graskaninchen*. Ist ja beim *Haferkaninchen* der Knotenpunkt von fast allen Tagen auf 20 gelegen, während dieser beim *Graskaninchen* von 25 bis sogar 40 variiert.

Auch haben wir die *Volumina* der Blutkörperchen an verschiedenen Tagen noch graphisch dargestellt.

Man sieht deutlich die steigende volle Linie des Blutkörperchen-volums des mit Hafer gefütterten Kaninchens, während die gebrochene Linie angibt, wie das Blutkörperchenvolum sich verhält bei dem mit Gras gefütterten Tier.

Beträgt beim *Haferkaninchen* die Zunahme der neuen Blutkörperchen von 39—56 Teilstrichen, d. h. 17 Teilstriche oder +43,5%, so sieht man nach der großen Blutentnahme des 1. Tages beim *Graskaninchen* eine Zunahme von 51,75—47,25 = 4,5 Teilstriche oder +9,5%.

Noch sei erwähnt, daß ebenso wie beim Kaninchenblut auch beim Menschenblut Auswäsung mit isotonischer $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösung

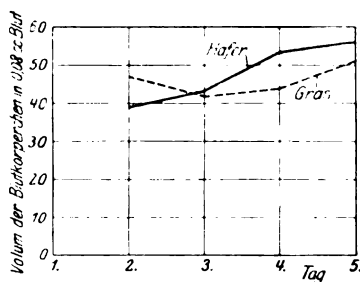


Abb. 5. Volumkurve. Volumina der Blutkörperchen im Blute von Hafer- und Graskaninchen.
— Hafer, - - - Gras.

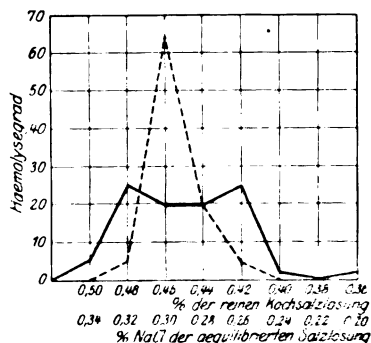


Abb. 6. Hämolysebild bei Anwendung von reinen NaCl-Lösungen und von gepufferten Salzlösungen, bzw. Na_2SO_4 -Lösungen. — reine NaCl-Lösung, - - - äquilibrierte Salzlösung.

eine Steigerung der Resistenz hervorruft. Um Raum zu ersparen, lassen wir die Zahlen weg.

Nach *Widal* tritt dieser Unterschied nicht auf bei Auswäsung mit *Kaliumoxalat*. *Widal* betrachtet das als einen Vorteil. Wir sehen hierin vielmehr einen Nachteil.

Schließlich reproduzieren wir hier noch Abb. 6, die in deutlicher Weise den Unterschied angibt zwischen dem Blutbild, das man erhält bei der Anwendung reiner NaCl-Lösung, und dem Blutbild, das man erhält bei Anwendung äquilibrierter Salzlösungen (*Brinkman*), von denen die Hypotoniegrößen erhalten wurden bloß durch Variation des NaCl-Gehalts.

Das Bild beider Kurven stimmt mit dem überein von Kurven 2 und 4, d. h. sie geben die Anzahl Blutkörperchen verschiedener Resistenz an¹⁾.

¹⁾ Man vergleiche meinen noch nicht erschienenen Artikel über die Blutkörperchenresistenz im *Abderhaldenschen* Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden.

Bei den oben beschriebenen Versuchen verlieden mir die Herren *H. J. H. van Lienden*, *M. S. van Ryn*, *Rudolf J. Hamburger* und *R. Roelink* ihre geschätzte Hilfe.

Zusammenfassung.

1. Lösungen von $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$, wenn nötig neutralisiert mit NaHCO_3 (S. 170), sind sehr geeignet sowohl für die Auswaschung wie für die Bestimmung der relativen Anzahl der roten Blutkörperchen verschiedener Resistenz (osmotische Resistenzkurve).

2. Man kann solche osmotische Resistenzkurven bekommen:

- a) Von Blutkörperchen, die ausgewaschen (deplasmatisiert) sind;
- b) von solchen, die nicht deplasmatisiert sind.

ad a). Für die Deplasmatisierung wäscht man die Blutkörperchen 2–3 mal mit einer isotonischen $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq}$ -Lösung (3%). Hierdurch werden sie von ihrer aus dem Plasma adsorbierten *Lecithinschicht* befreit. Man kann sich vorstellen, daß in diesem Zustande die Blutkörperchen aus dem Knochenmark in die Blutbahn übergehen. Diese Blutkörperchen geben die *primäre Resistenzkurve* (vgl. S. 165).

ad b). Die nicht deplasmatisierten Blutkörperchen besitzen also noch die aus dem Plasma adsorbierte Schicht. Das mit diesen Blutzellen erhaltene Resistenzbild stellt das der *sekundären Resistenzkurve* vor.

3. Durch Auswaschung mit einer isotonischen Na_2SO_4 -Lösung werden die Blutkörperchen mehr resistent, und zwar durch den Verlust von *Lecithin*, das die Eigenschaft besitzt, die Resistenz herabzusetzen.

4. Weder für die Feststellung der primären und noch weniger für die der sekundären Resistenzkurve ist der Gebrauch einer reinen NaCl -Lösung empfehlenswert. Die Ursache ist größtenteils in dem lyotropen Einfluß gelegen, welche aber neutralisiert werden kann durch Zusatz eines bestimmten Gehalts an Ca -Ionen, wie dieser vorhanden ist im Ultrafiltrat des Serums und auch in einer Art Ringerlösung, in der der Ca -Ionengehalt durch ein zweckmäßiges Puffersystem konstant gehalten wird (S. 170). An dem Gebrauch von Ultrafiltrat für Resistenzbestimmungen kann aber beim Menschen nicht gedacht werden, auch nicht bei kleineren Tieren, da eine zu große Blutmenge dafür nötig ist. Außerdem muß die H -Ionenkonzentration stets normal gehalten werden. Es ist das notwendig, weil bei der Ultrafiltration CO_2 -Verlust aus dem Serum stattfindet.

Die Anwendung äquilibrierter (gepufferter) Salzlösungen ist für nicht sehr Geübte beschwerlich.

Es hat sich aber herausgestellt, daß $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{ aq.}$ -Lösung *vollkommen dieselben Resultate gewährt wie die theoretisch wohlbegründete, unanfechtbare äquilibrierte Salzlösung*. Es kann dies nicht gesagt werden vom Kaliumoxalat (*Widal* und seine Schüler).

5. Durch den Gebrauch von Na_2SO_4 für die Bestimmung der primären und sekundären Resistenzkurven kann man in leichter Weise eine Anzahl von Problemen betreffs Zerfall und Regeneration von Blutkörperchen untersuchen. So hat sich z. B. herausgestellt, wie bei Kaninchen nach Blutungsanämie der Zusatz von Lecithin und fetthaltiger Nahrung für die Regeneration des Blutes notwendig ist (Haferkaninchen gegenüber Graskaninchen).

6. Weiter gibt der Gebrauch von Na_2SO_4 ein einfaches Mittel an die Hand, zur Erörterung der Frage, ob Änderung der Resistenz entweder von den Blutkörperchen selbst oder vom Plasma oder von beiden herrührt.

Die Wirkung des Phlorrhizins auf den Blutzucker bei diffusen doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen. Ein Beitrag zur Frage der Phlorrhizinwirkung.

Von
Stefan Hetényi.

(Aus der I. Medizinischen Klinik der Universität Budapest.)

(Eingegangen am 30. Januar 1922.)

Die glucosurieerzeugende Wirkung des Phlorrhizins ist seit *v. Merings* im Jahre 1885 stattgefundenen Experimenten bekannt¹⁾. Da die Phlorrhizinglucosurie ohne Hyperglykämie verläuft und der Blutzuckerspiegel nach einer Phlorrhizingabe sogar eher sinkt, hat man seinen Angriffspunkt in die Nieren verlegt. Neben anderen spricht auch *Zuntz*²⁾ bekanntes Experiment dafür: Er spritzte die Phlorrhizinlösung in die eine Nierenarterie ein, worauf diese Niere schon nach einigen Minuten Zucker ausschied, hingegen die andere Niere erst nach einer halben Stunde.

Für die Entstehung des Mechanismus der Phlorrhizinglucosurie stellte man verschiedene Theorien auf: Sicher ist es heute schon anzunehmen, daß ohne aktive Nierenarbeit die glucosurieerzeugende Wirkung nicht zur Geltung kommen kann.

Die Zuckerausscheidung erfolgt durch die Epithelien der Nierenkanälchen. *Mosberg*³⁾, *Marcuse*⁴⁾, *Seelig*⁵⁾, *Nishi*⁶⁾, *Schabad*⁷⁾ haben die glucosurieerzeugende Wirkung des Phlorrhizins untersucht und fanden die ausgeschiedene Zuckerquantität bei experimentellen Nierenerkrankungen vermindert, ebenso auch *Hellin* und *Spiro*⁸⁾. Letztere sahen das vollständige Ausbleiben der Glucosurie nur nach durch *Cantharidin* verursachten schweren Nierenparenchymveränderungen. *Klemperer*⁹⁾ konnte bei Nierenkranken in einigen Fällen keine Glucosurie erzeugen. Seine diesbezüglichen Beobachtungen gaben für zahlreiche Debatten Gelegenheit; so erklärte *Magnus-Lervy*¹⁰⁾ das Ausbleiben der Glucosurie durch die nicht entsprechende Applikationsform. *Klemperer* gab es nämlich per os und nicht subcutan.

Ich möchte mich in der vorliegenden Mitteilung mit den Beziehungen zwischen der Quantität des im Urin erscheinenden Zuckers resp. des Ausbleibens der Glucosurie und der Arbeitsfähigkeit der Nieren nicht

¹⁾ *V. Mehring*, Verhandl. des V. Kongreß f. inn. Med.

²⁾ *N. Zuntz*, Arch. f. Physiol. 1893.

³⁾ *Mosberg*, Diss. Würzburg 1898.

⁴⁾ *Marcuse*, Verein f. innere Medizin 1898.

⁵⁾ *Seelig*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 1910.

⁶⁾ *Nishi*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 1910.

⁷⁾ *Schabad*, Wien. med. Wochenschr. 1894.

⁸⁾ *Hellin* und *Spiro*, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. 1897.

⁹⁾ *Klemperer*, Berl. klin. Wochenschr. 1896.

¹⁰⁾ *Magnus-Lervy*, Berl. klin. Wochenschr. 1896.

beschäftigen, da ich das an anderer Stelle auf Grund meiner noch nicht abgeschlossenen Untersuchungen beabsichtige.

Im folgenden teile ich diejenigen Untersuchungen mit, die sich bei diffusen doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen auf die, nach Phlorrhizininjektion eintretende Schwankung des Blutzuckers beziehen. Die Versuche wurden an Kranken angestellt, die seit dem vorangehenden Abend gehungert und gedurstet haben, und die ihr Frühstück erst nach der zweiten Blutentnahme erhielten. Nach der Bestimmung des Blutzuckerwertes nüchtern wurde von einer 2proz. alkoholischen Phlorrhizinlösung 1 ccm subcutan eingespritzt und 90 Minuten nach der Einspritzung der Blutzuckergehalt neuerlich bestimmt [nach *Bang*¹⁾-*Ernst* und *Weiß*²⁾]. Die Kranken, die an eine 60 g Eiweiß, ca. 300 g Kohlenhydrat (2000 Calorien) und maximal 1000 g Wasser enthaltende Diät gesetzt waren, bekamen während des Tages noch 2 Injektionen mit mindestens 4stündigen Intervallen. Die Lösung wurde knapp vor der Injektion jedesmal frisch bereitet. Von dem zwischen der ersten Injektion und der zweiten Blutentnahme produzierten Urin wurden einige Kubikzentimeter zur qualitativen Untersuchung (nach *Fehling* und *Nylander*) benützt, die Tagesmenge gesammelt und der Zucker nach der Enteiweißung quantitativ mit Polarisation bestimmt. Das Auftreten von Aceton habe ich kein einziges Mal gesehen.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen sind in den vorliegenden 2 Tabellen zusammengestellt.

In allen 7 Fällen ist die *Fehlingsche* resp. *Nylandersche* Probe 90 Minuten nach der Einspritzung stark positiv ausgefallen, und während dieser Zeit ist der Blutzuckerspiegel gesunken.

Tabelle I.

Versuchs- Nr. und Datum	Name und Alter	Diagnose	Blutzucker		Glucose im Urin		Blutdruck nach r. <i>Reckling- hausen</i>	Dilution- Konzentration	Bemerkung
			nüchtern	90' nach Phlor- rhizin	nach 0,02 g Phlor- rhizin	nach 3 · 0,02 g Phlor- rhizin			
I.	H. R. 26 J.	Glomerulonephr.							
22. XI. 20		diff. chron. . . .	0,11	0,07	+	7,8 g	120—190	1001—1028	3° ₀₀ Albumen
II.	M. S. 27 J.	Glomerulonephr.							
6. XII. 20		diff. acuta	0,07	0,057	+	16,9 g	95—145	1000—1034	1,2° ₀₀ ..
III.	Sz. J. 56 J.	Nephrosclerosis							
22. IV. 21		benigna	0,125	0,082	+	23,2 g	180—280	spont. b. 1131	Spuren
IV.	U. J. 41 J.	Glomerulonephr.							
6. VI. 21		diff. acuta	0,162	0,142	+	0,9 g	190—230	1000—1017	7° ₀₀ Albumen
V.	D. J. 30 J.	Glomerulonephr.							
7. VI. 21		diff. chron.	0,157	0,125	+	5,2 g	140—210	1002—1021	1,5° ₀₀ ..
VI.	V. Z. 28 J.	Nephrosclerosis							
10. VI. 21		benigna	0,114	0,107	+	10,5 g	180—260	1002—1032	Spuren
VII.	F. J. 44 J.	Glomerulonephr.							
17. VI. 21		diff. acuta	0,104	0,096	+	6,6 g	185—210	1015—1025	1,2° ₀₀ Albumen

¹⁾ *Bang*, diese Zeitschr. 87.

²⁾ *Ernst* und *Weiß*, Wien. med. Wochenschr. 1921.

Tabelle II.

Versuchs-Nr. und Datum	Name und Alter	Diagnose	Blutzucker		Glucose im Urin		Blutdruck nach v. Recklinghausen	Dilution-Konzentration	Bemerkung
			nüchtern	10' nach Phlorrhizin	nach 0,02 g Phlorrhizin	nach 3-0,02 g Phlorrhizin			
I. 16. XII. 20	M. B. 22 J.	Amyloidniere	0,064	0,0725	Spuren	Spuren	80—155	1014—1035	11 ⁰ / ₁₀₀ Albumen
II. 23. XII. 20	Cs. T. 18 J.	Glomerulonephr. diff. chron.	0,104	0,107	+	7,7 g	90—145	1000,5—1026	2 ⁰ / ₁₀₀ „
III. 12. I. 21	B. E. 11 J.	Glomerulonephr. diff. acuta	0,08	0,114	+	7,15	maximal 130	1002—1022	Spuren
IV. 30. I. 21	Zs. B. 32 J.	Glomerulonephr. diff. chron.	0,107	0,157	0	Spuren	maximal 175	1003—1025	1,5 ⁰ / ₁₀₀ Albumen
V. 24. IV. 21	Dz. K. 27 J.	dgl.	0,100	0,107	0	0	125—175	1003—1016	1,75 ⁰ / ₁₀₀ „ Wassermannreaktion + + +
VI. 24. IV. 21	E. I. 43 J.	dgl.	0,110	0,121	0	0	140—230	1001—1021	4 ⁰ / ₁₀₀ Albumen
VII. 9. V. 21	D. E. 19 J.	dgl.	0,125	0,153	0	0	maximal 170	1000,5—1023	7 ⁰ / ₁₀₀ „
VIII. 23. V. 21	H. G. 27 J.	dgl.	0,104	0,117	0	0	176—238	1005—1014	3 ⁰ / ₁₀₀ „
IX. 25. V. 21	H. G. 27 J.	dgl.	0,109	0,121	0	0	180—240	spontan 1018	3 ⁰ / ₁₀₀ „
X. 23. V. 21	M. A. 37 J.	dgl.	0,088	0,116	0	8,3 g	100—145	1006—1030	2 ⁰ / ₁₀₀ „
XI. 2. VI. 21	G. L. 47 J.	Glomerulonephr. diff. acuta	0,116	0,123	Spuren	Spuren	130—210	1001—1015	1 ⁰ / ₁₀₀ „
XII. 8. VI. 21	B. I. 53 J.	Glomerulonephr. diff. chron.	0,085	0,089	Spuren	Spuren	120—180	1005—1032	1 ⁰ / ₁₀₀ „
XIII. 8. VI. 21	K. I. 42 J.	dgl.	0,103	0,107	0	0	95—140	spontan 1018	3,3 ⁰ / ₁₀₀ „
XIV. 15. VI. 21	W. P. 29 J.	dgl.	0,130	0,150	Spuren	Spuren	145—212	1003—1024	5 ⁰ / ₁₀₀ „

In den in der zweiten Tabelle zusammengestellten 13 Fällen betrug die Erhöhung des Blutzuckers bei 8 Fällen mehr als 0,01, und zwar bei 2 Fällen 0,028, bei je einem Falle 0,05, 0,034, 0,02 und 0,018; bei 5 Fällen war sie geringer. Der zwischen der Injektion und der zweiten Bestimmung produzierte Urin reduzierte *zweimal* (Fall 2 und 3) deutlich, *viermal* (Fall 1, 10, 11, 13) nur in Spuren und bei den übrigen 7 Kranken — 8 mal — überhaupt nicht.

Anmerkung während der Korrektur: Seitdem konnte ich nach Phlorrhizineinspritzungen noch in drei Fällen Blutzuckersteigerung konstatieren, und zwar mit 0,03, 0,021 und 0,016. In zwei Fällen war im Urin überhaupt kein Zucker, einmal nur in Spuren nachweisbar.

Wenn man die 2 Tabellen vergleicht, ist es auffallend, daß mit Ausnahme von Fall 3 der zweiten Tabelle bei jedem eine deutliche glucosurieerzeugenden Falle der Blutzuckerspiegel nach der Injektion, wie unter physiologischen Verhältnissen, gesunken war. Bei den Fällen, wo die Glucosurie ausblieb oder nur in Spuren zu konstatieren war, stellte sich beinahe ausnahmslos ein Anstieg des Blutzuckerspiegels ein. Die letz-

teren erinnern stark an *Underhills*¹⁾ nephrektomisierten Hunde, bei welchen er nach Phlorrhizineinspritzung Hyperglykämie fand.

Es ist also mit Rücksicht auf die Untersuchungen von *Underhill* nicht annehmbar, daß der unter Phlorrhizinwirkung in der Niere produzierte Zucker einmal im Urin, andersmal im Blute erscheint. Der Anstieg des Blutzuckers kann also nur dann eintreten, wenn das Phlorrhizin nicht nur auf die Niere, sondern auch auf andere Organe wirkt und infolgedessen der Zuckerumsatz beeinflußt wird.

Zur Erklärung der obigen Resultate scheinen vielleicht *Grubes*²⁾ Experimente dienen zu können: Er setzte der die Schildkrötenleber durchströmenden Nährflüssigkeit Phlorrhizin zu und fand nachher den Glykogengehalt der Leber vermindert. Wenn er Phlorrhizin und Glucose gleichzeitig durchströmen ließ, dann vergrößerte sich der Glykogengehalt der Leber nicht, während der Glykogengehalt denjenigen Experimenten, in welchen die Nährflüssigkeit nur Glucose enthält, zunahm, was darauf hinweist, daß das Phlorrhizin die glykogenbildende oder glykogenbindende Fähigkeit der Leber beeinflußt. Auch dieser Umstand könnte den Blutzuckeranstieg nach Phlorrhizin in solchen Fällen erklären, wo die Elimination des Zuckers verhindert ist. *Schöndorff* und *Sukrow*³⁾ machen zwar die Verwertbarkeit der *Grubeschen* Experimente streitig: jedoch berichtet *Grube* in seiner späteren Mitteilung über ganz identische Resultate bei Hunden und weist nach, daß die Mehrzahl der *Schöndorff*- und *Sukrowschen* Experimente auch für seine Annahme spricht⁴⁾.

Andererseits fanden *Galambos* und *Schill*⁵⁾, daß Phlorrhizin subcutan die Verbrennung der Dextrose verringert, beschränkt, evtl. auch aufhebt. *Galambos* und *Schill* experimentierten mit dem *Zuntz-Geppertschen* Apparate an Menschen und Hunden und folgerten aus der Erhöhung des respiratorischen Quotienten resp. aus dem Ausbleiben desselben auf die Zuckerverbrennung.

Auf Grund der obigen Ausführungen ist es also anzunehmen, daß das Phlorrhizin seine Wirkung nicht nur auf die Nieren entfaltet. Unter normalen Verhältnissen steht aber seine glucosurieauslösende Wirkung derart im Vordergrund, daß sie die Zuckermobilisation ganz *verdeckt*. Wenn die renale Wirkung — z. B. in gewissen Stadien der Nierenerkrankungen — sinkt oder ganz ausbleibt, so tritt die Zuckermobilisation in den Vordergrund, die sich im Anstieg des Blutzuckerspiegels resultiert.

Meine Untersuchungen scheinen diese Annahme zu bestätigen.

¹⁾ *Underhill*, Journ. of biol. chem. 1912.

²⁾ *Grube*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **118**.

³⁾ *Schöndorff* und *Sukrow*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **138**.

⁴⁾ *Grube*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **139**.

⁵⁾ *Galambos* und *Schill*, Arch. f. exper. Pathol. **16**. 1914.

Nachtrag zu meiner Arbeit:
Zur Kenntnis des heterogenetischen Hammelblutantigens.

Diese Zeitschr. **122**, 225.

Von
Kurt Meyer.

(Eingegangen am 30. Januar 1922.)

Auf S. 230 meiner Arbeit spreche ich davon, daß *Sordelli* und *Fischer* zwar mit den alkoholischen Extrakten aus Hundeorganen keine Antikörperbildung hervorzurufen vermochten, wohl aber bei gleichzeitiger Injektion der an sich ebenfalls unwirksamen, mit Alkohol extrahierten Organe.

Herr Prof. *Landsteiner* macht mich darauf aufmerksam, daß dieses Zitat nicht zutreffend sei. Wie ich einer nochmaligen Durchsicht der Arbeit von *Sordelli* und *Fischer*¹⁾ entnehme, gelang diesen Autoren auch mit den extrahierten Organen Antikörperbildung, die durch gleichzeitige Injektion der alkoholischen Extrakte sogar abgeschwächt wurde.

¹⁾ *Sordelli* und *G. Fischer*, Rev. del Instit. Bacteriol. di Buenos Aires **1**, 229. 1918.

Über die Beziehungen des heterogenetischen Hammelblut- antigens zu anderen lipoiden Antigenen¹⁾.

Von
Kurt Meyer.

(Aus der Bakteriologischen Abteilung des Rudolf Virchow-Krankenhauses zu Berlin.)

(Eingegangen am 30. Januar 1922.)

In der vorhergehenden Mitteilung²⁾ habe ich den Nachweis erbracht, daß die Fähigkeit der heterogenetischen Hammelblutantigen enthaltenden Organe, mit homologem, heterogenetische Antikörper enthaltendem Immunserum unter Komplementbindung zu reagieren, also jene Seite der antigenen Wirkung, für die *Landsteiner*³⁾ kürzlich die treffende Bezeichnung Haptenwirkung vorgeschlagen hat, an die acetonunlöslichen Lipoiden vom Charakter des Lecithins und Cephalins gebunden ist, ein Befund, der durch unabhängig davon entstandene Untersuchungen von *Taniguchi*⁴⁾ inzwischen bestätigt worden ist. Es war hiermit das dritte Beispiel einer antigenen Wirkung von Lipoiden festgestellt, nachdem ich früher für die Lipoiden aus Bandwurmeiweißsubstanz und aus Tuberkelbacillen den gleichen Nachweis hatte führen können.

Nun ist schon seit langem bekannt, daß das heterogenetische Antigen eine sehr weite, anscheinend ganz regellose Verbreitung in der Natur hat. So wurde es außer in den Organen verschiedener Säugetiere und Vögel von *Tsuncoka*⁵⁾ in Fischkiemen, von *Rothacker*⁶⁾ in *Paratyphusbacillen* nachgewiesen. *Es war daher mit der Möglichkeit zu rechnen, daß auch die aus Bandwürmern und Tuberkelbacillen isolierten antigenen Lipoiden nichts anderes als das heterogenetische Antigen seien.*

¹⁾ Über antigene Wirkung von Lipoiden. 11. Mitteilung. Die 10. Mitteilung erschien in dieser Zeitschr. **122**, 225. 1921, Mitteilung 1—9 in der Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **7**—**21**.

²⁾ *Kurt Meyer*, diese Zeitschr. **122**, 225. 1921.

³⁾ *K. Landsteiner*, diese Zeitschr. **119**, 294. 1921.

⁴⁾ *T. Taniguchi*, Journ. of Pathol. u. Bakteriol. **24**, 217. 1921.

⁵⁾ *R. Tsuncoka*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **22**, 567. 1914.

⁶⁾ *A. Rothacker*, Zeitschr. f. Immunitätsforsch. **16**, 491. 1913.

Allerdings sprachen einige Tatsachen gegen eine solche Identität. So konnte *Tsuneoka* bei Tuberkelbacillen kein Bindungsvermögen für heterogenetische Antikörper feststellen. Ferner war es mir seinerzeit gelungen, Meerschweinchen durch Bandwurmlipide anaphylaktisch gegen Bandwurmextrakt zu machen, also eine Antikörperreaktion hervorzurufen, während bekannt ist, daß Meerschweinchen gegen das heterogenetische Antigen, da es ja in ihren eigenen Organen enthalten ist, keine Antikörper zu bilden vermögen. Trotzdem erschien es erwünscht, die oben aufgeworfene Frage experimentell zu prüfen.

Die Versuchsanordnung ergab sich von selbst. Es war nur notwendig, jedes der drei Lipide im Komplementbindungsversuch gegen drei Sera auszuwerten, die durch Immunisierung von Kaninchen mit Bandwurmleibessubstanz, mit abgetöteten Tuberkelbacillen und mit Pferdeniere gewonnen waren und reichlich komplementbindende Antikörper enthielten. Von den acetonunlöslichen Lipiden wurden die in Alkohol unlöslichen, in Äther löslichen, also den Charakter des Cephalins tragenden gewählt. In der nachfolgenden Tabelle, aus der auch die Einzelheiten der Versuchsanordnung zu erschen sind, sind die Ergebnisse dargestellt.

1:500 cem	Pferdenieren- immunserum 1:10 0,25 cem			Tuberkelbacillen- immunserum 1:20 0,25 cem			Bandwurm- immunserum 1:10 0,25 cem		
	Pferde- nieren- cephalin	Tuberkel- bacillen- cephalin	Band- wurm- cephalin	Pferde- nieren- cephalin	Tuberkel- bacillen- cephalin	Band- wurm- cephalin	Pferde- nieren- cephalin	Tuberkel- bacillen- cephalin	Band- wurm- cephalin
0,05	0	f c	c	Spur	0	c	f c	f c	0
0,02	0	c	c	c	0	c	c	c	0
0,01	0	c	c	c	Spur	c	c	c	0
0,005	i	c	c	c	i	c	c	c	Spur
0,002	f c	c	c	c	c	c	c	c	f c

Überall 0,25 cem Meerschweinchenserum 1:10. Nach 1 Stunde bei 37° Zusatz von 0,5 cem sensibilisierten Rinderblutes. Ablesung nach Lösung der Kontrollen. c = komplette, fe = fast komplette, i = inkomplette, 0 = keine Hämolyse.

Aus der Tabelle ergibt sich ohne weiteres die *Verschiedenheit der drei Lipide und die strenge Spezifität ihrer homologen Antikörper*. Jedes Serum gab nur mit dem homologen Antigen eine positive Komplementbindungsreaktion. Nur in den höchsten Konzentrationen sind ganz schwache gekreuzte Reaktionen zu verzeichnen, die, wenn auch mit der Hälfte der nicht mehr hemmenden Mengen gearbeitet wurde, wohl auf Summation von Eigenhemmungswirkungen der Sera und Lipide zu beziehen sind.

Bezüglich der *Vielheit der lipoiden Antigene kann also kein Zweifel bestehen*. Rätselhaft bleibt nur ihr anscheinend regelloses Vorkommen in den Organen nur bestimmter Tierspezies oder in der Leibessubstanz einzelner Bakterienarten.

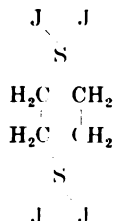
Über ein neues Antisepticum mit hohem Jodgehalt (Diäthylendisulfidtetrajodid).

Von
C. Bachem.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Bonn.)

(Eingegangen am 30. Januar 1922.)

Ein neues organisches Jodpräparat mit sehr hohem Jodgehalt und stark antiseptischen Eigenschaften ist das *Diäthylendisulfidtetrajodid*. Seine Konstitution ergibt sich aus der Formel



Es stellt ein blauschwarzes Pulver dar, das einen scharfen, durchdringenden, teils an Knoblauch, teils an Mercaptan erinnernden Geruch besitzt. Neben 10,19% Schwefel enthält dieser Körper 80,89% Jod im Molekül.

Zunächst wurde die Jodabspaltung experimentell unter verschiedenen Bedingungen geprüft, wie ich dies für eine Reihe von Jodoformersatzpräparaten gemeinsam mit *Kriens*¹⁾ durchgeführt habe. Infolge des hohen Jodgehaltes nimmt das Präparat eine gewisse *Sonderstellung* ein und wird hierin nur vom Jodoform mit etwa 97% Jodgehalt übertroffen. Man darf indessen nicht von vornherein voraussetzen, daß Präparate mit hohem Jodgehalt auch therapeutisch am stärksten wirksam sein müssen. Die Abspaltbarkeit des Jods ist von verschiedenen Faktoren abhängig und geht nicht stets parallel mit der antiseptischen Kraft. Die Wirkung des Jodoforms beruht nach der *Binz*-schen Anschauung in der ständigen Abspaltung von freiem Jod, eine Ansicht, die sich heute zwar nicht mehr ganz aufrecht erhalten läßt, zum Teil aber doch ihre Richtigkeit besitzt. Auch die Löslichkeit des Präparates in den Körpersäften ist deshalb von Wichtigkeit, weil hier

¹⁾ *Bachem und Kriens*, diese Zeitschr. **120**, 230.

ein Hauptort für die Spaltung des Moleküls zu suchen ist, insbesondere dürfte hier eine Abspaltung von freiem Jod stattfinden.

Diese und ähnliche Fragen habe ich mit Herrn cand. med. dent. *H. Hartenscheidt*, der sie (1921) in einer Inauguraldissertation (Dr. med. dent.) eingehend beschrieben hat, experimentell geprüft und zu diesem Zwecke das neue Jodpräparat unter ähnliche Bedingungen gebracht, wie sie bei der praktischen Anwendung gegeben sind, d. h. unter Einwirkung von Wasser, Eiweiß, Wärme und Licht, was alles bei der Wundbehandlung eine Rolle spielen kann.

Zunächst wurde Diäthylendisulfditetrajodid auf die *Abspaltung des Jods* in Wasser geprüft. Durch Umschütteln von 0,2 g der Substanz mit 10 ccm Wasser während einer Minute war nach 48 Stunden eine nennenswerte Menge Jod in Freiheit gesetzt worden: die Titration mit $\frac{1}{10}$ -N-Thiosulfatlösung ergab 6,4 mg J. Die analogen Versuche wurden mit Äther und Alkohol angestellt: 0,1 g des Präparates mit 15 ccm Alkohol oder Äther geschüttelt und 48 Stunden stehengelassen, zeigte beim Versetzen mit Stärkelösung eine tiefblaue Färbung bei der Ätherprobe. Die Titration ergab einen Jodgehalt von 78,74 mg. Da 0,1 g der Substanz 0,0809 g Jod enthält und sich 0,07874 g freies Jod in der Ätheraufschwemmung vorfand, so ergibt sich, daß bis auf 2,67% alles Jod im Äther abgespalten wurde. Die Spaltung in ätherischer Lösung ist also fast quantitativ.

Zur Prüfung auf Jodabspaltung in *Eiweißlösungen* wirkten 20 ccm einer 5proz. Lösung von Albumen Ovi siccum auf 0,2 des Präparates 3 Tage lang ein. Es fanden sich nur Spuren freien Jods, jedenfalls bedeutend weniger als in dem erwähnten Versuch mit Wasser. Daß mehr freies Jod gefunden würde, war deshalb unwahrscheinlich, weil die Basizität des Eiweißmoleküls das freie Jod in Bindung mit dem Eiweiß bringt. Inwieweit dieser Vorgang auch hier eine Rolle gespielt hatte, wurde nicht weiter untersucht.

Zur Prüfung des Einflusses des diffusen Tageslichtes auf die Substanz wurden 0,1 g 3 Tage lang in diffusem Tageslicht aufbewahrt, die gleiche Gewichtsmenge blieb 3 Tage unter Lichtabschluß. Nach dieser Zeit wurden beide Präparate mit Jodkaliumlösung (zur besseren Lösung des etwa abgespaltenen Jods) versetzt und das Filtrat mit Natriumthiosulfat titriert, wobei sich in beiden Fällen je 2,54 mg Jod abgespalten hatte. Eine Beeinflussung durch das Tageslicht hatte also nicht stattgefunden.

Anschließend hieran wurde auch der Einfluß direkten *Sonnenlichtes* auf das Präparat geprüft. Wiederum wurden 0,1 g 3 Tage hindurch der Einwirkung des Sonnenlichtes ausgesetzt (die Versuche wurden im Hochsommer angestellt) und zwar mit dem Ergebnis, daß 4,2 mg J abgespalten wurden. Das direkte Sonnenlicht bewirkte also fast eine Verdopplung der Jodabspaltung.

Von Interesse war sodann die Feststellung der *keimtötenden Wirkung* der Substanz, die infolge der langsamen Jodabspaltung a priori eine beträchtliche sein mußte im Gegensatz zum Jodoform, dem als unzersetztes Molekül nur geringe antiseptische Wirkung zukommt. Es bestätigte sich, daß auch hier das Jod in Statu nascendi eine erhebliche antiseptische Kraft besitzt. Zunächst wurde die Einwirkung auf nicht pathogene Keime geprüft, wozu eine *Bacillus prodigiosus*-Kultur diente, die in einzelnen Ausstrichen auf Nähragar verteilt wurde. Einzelne Striche wurden nun mit dem Jodpräparat geimpft, andere mit Jodoform, wieder andere blieben der Kontrolle halber frei. Nach 24stündigem Aufenthalt im Brutschrank zeigten die unter Jodwirkung stehenden Ausstriche absolut kein Wachstum; das gleiche war nach 48 Stunden der Fall. Eine geringe Hemmung des Wachstums war bei den unter Jodoformeinfluß stehenden Strichen zu beobachten. Die nämlichen Resultate ergaben sich, wenn statt Agar in Petrischalen Reagensglasschräggkulturen genommen wurden: Es zeigte sich unter Einwirkung des neuen Jodpräparates nicht das geringste Wachstum. — Gleichzeitig wurde auch die Einwirkung auf pathogene Keime geprüft: hier dienten *Bacterium coli* und *Micrococcus pyogenes aureus* als Objekt. Auch hierbei erwies sich die hervorragende antiseptische Wirkung des Jodpräparates: Jegliches Wachstum von Bakterien blieb aus.

Die *Giftwirkung* der neuen Substanz wurde sodann in einigen Tierversuchen geprüft. Da das Präparat in den bekannteren Lösungsmitteln unlöslich ist und sich mit Äther sehr leicht zersetzt unter Jodabspaltung (s. o.), wurde eine 5proz. Bolusverreibung mit Wasser aufgeschwemmt und den Tieren mittels Schlundsonde eingeflößt. Eine Abschwächung der toxischen Wirkung durch die adsorbierende Kraft des Bolus dürfte praktisch kaum in Frage kommen, da gleichzeitig viel Wasser mitgeführt wurde, andererseits die Berührung mit der Schleimhaut des Magendarmkanals eine langanhaltende war, so daß sich doch wenigstens nach einigen Tagen toxische Erscheinungen hätten zeigen müssen. Zudem ergab die Jodbestimmung im Harn (s. u.), daß nach 24 Stunden mehr als die Hälfte des eingeführten Jods den Kreislauf passiert hatte.

0,05 g des Jodpräparates, mit Bolus aufgeschwemmt, wurde einem Kaninchen von 2800 g per os in 2tägigen Intervallen eingeflößt; dabei wurde die Dosis allmählich auf 4 g der Mischung, entsprechend 0,2 g Diäthylendisulfidtetrajodid, gesteigert. Während dieser Zeit war keine Störung des Allgemeinbefindens beim Tier zu beobachten. Auch waren anderweitige Nebenwirkungen nicht zu gewahren. Selbst die hohe Gabe von 4 g mit einem Jodgehalt von 0,16 g ertrug das Tier ohne sichtliche Schädigung. Im Harn fand sich kein Eiweiß, dagegen war die Probe auf Jod stark positiv.

Der Jodnachweis wurde in der bekannten Weise durch Veraschen mit Soda und Salpeter geführt, die Asche mit Wasser ausgezogen, mit Schwefelsäure und Kaliumbichromat das Jod in Freiheit gesetzt, mit Chloroform ausgeschüttelt und mit Natriumthiosulfatlösung titriert.

Die *Jodausscheidung* betrug in dem Harn von 24 Stunden 0,087 g (= 54% der zugeführten Menge). Auch die am zweitfolgenden Tage gemachte Harnuntersuchung auf Jod ergab ein positives Resultat.

Eine weitere Untersuchung mußte die *Reizwirkung* des Präparates betreffen. Es war infolge der starken Jodabspaltung anzunehmen, daß diese eine erhebliche sein mußte. Brachte man 0,2 g in das äußere Auge eines Kaninchens, so trat starke Reizung auf, nach 5 Stunden waren bereits heftige Entzündungserscheinungen zu beobachten, welche sich innerhalb 24 Stunden noch steigerten. Die Cornea zeigte u. a. eine starke Trübung. Des weiteren wurde die Einwirkung auf die gesunde menschliche Haut geprüft; hierbei ließ sich indes eine Reizwirkung nicht feststellen.

Um die Einwirkung der Substanz auf *Wunden* zu prüfen, wurde einem Kaninchen mit Sandpapier die Oberhaut abgerieben, wodurch leichtblutende Wundflächen erzeugt wurden. Eine dieser Flächen wurde mit dem Jodpräparat messerrückendick bestreut, die andere wurde zur Kontrolle freigelassen. Nach 12 Stunden zeigte sich zwar eine merkliche Verminderung der Sekretion, jedoch war auch eine leichte Reizwirkung der Wunde und ihrer Umgebung festzustellen (die Wunde sah fast wie mit Jodtinktur behandelt aus). Eine direkte Schädigung der Wunde war allerdings nicht zu gewahren. Nach kurzer Zeit trat Austrocknung und Verschorfung ein, die aber langsamer von statten ging, als unter der Einwirkung anderer Trockenantiseptica.

Der Hauptvorteil des untersuchten Jodpräparates besteht also vornehmlich in seiner starken antiseptischen Kraft. Seine Giftwirkung scheint keine allzu große zu sein. In seiner praktischen Anwendung dürfte es anderen leicht jodabspaltenden Jodoformersatzpräparaten gleichkommen, die es vielleicht an keimtötender Wirkung noch übertrifft. Von Nachteil ist der durchdringende Geruch, der sich auch in Bolusverreibung nicht unterdrücken läßt. Auch wird die gelegentliche Reizwirkung auf Schleimhäuten seiner Anwendung mitunter eine Grenze ziehen.

Neben dem hohen Jodgehalt besitzt die Substanz noch 2 Atome *Schwefel* im Molekül. Der Frage, ob die locker gebundenen Schwefelatome eine hinreichende Wirkung entfalten können, bin ich nicht weiter nähergetreten. Indes ist anzunehmen, daß die Wirkung der doch immerhin geringen Menge Schwefel übertönt wird von der des reizenden Jods. Vielleicht kann Diäthylendisulfidtetrajodid in der Dermatologie bei solchen parasitären Hautkrankheiten Verwendung finden, wo ein Zusammenwirken von Jod und Schwefel erwünscht ist.

Über den Stoffwechsel bei vitaminfreier Ernährung*).

Von

M. Tsuji (Kioto).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts und dem Laboratorium der Ersten medizinischen Klinik der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 1. Februar 1922.)

Mit 1 Kurve im Text.

Um es gleich vorwegzunehmen: die vorliegende Stoffwechseluntersuchung am Hunde umfaßt in gewissem Sinne ein weiteres Problem als das der Stoffwechselstörung bei einer vollständig, aber einseitig vitaminfreien Ernährung. Denn das Tier wurde bis auf das Kochsalz gleichzeitig salzarm ernährt. Folgende Überlegungen führten zu dieser Versuchsanordnung.

Einige Erfahrungen sprechen dafür, daß die Salze als *Energievermittler* den Stoffwechsel der organischen Substanz im Körper beeinflussen. Die Vitamine können bei der geringen Menge, in der sie aufgenommen werden, nicht als *Energiespender*, sondern auch *nur als Energievermittler* wirken. Wie man sich diese Energievermittlung im einzelnen denken kann, soll hier nicht untersucht werden. Im wesentlichen kommen 2 Möglichkeiten in Frage: entweder ist das Vitamin ein integrierender Bestandteil der Zellstruktur oder es ist *an* oder *in* die Zelle gewissermaßen als Zelleinlage gefügt und wirkt in diesem Falle ähnlich wie z. B. anorganische Katalysatoren, ohne daß mit diesem Vergleich irgend etwas über die Wirkungsrichtung präjudiziert werden soll.

Möglicherweise besteht also eine gewisse Analogie zwischen der Salz- und Vitaminwirkung auf den Stoffwechsel der organischen Substanz im Körper. Wenn diese Vorstellung richtig wäre, dann wäre es auch

*) Professor *Bickel* hat in seiner Arbeit „Experimentelle Untersuchungen über den Einfluß der Vitamine auf Verdauung und Stoffwechsel und die Theorie der Vitaminfunktion“, Klin. Wochenschr. Nr. 3. 1922, auf die vorliegende Stoffwechselstudie bereits Bezug genommen und mit ihr seine Theorie der Vitaminfunktion zum Teil begründet.

denkbar, daß die Störungen im Stoffwechsel der organischen Substanz, die entweder nach Salz- oder nach Vitaminmangel auftreten, sich in der oder jener Richtung gleichsinnig bewegen. Ein Mangel an beiden Faktoren würde also wohl eine Steigerung gewisser Stoffwechselstörungen zur Folge haben können, die schon durch den Ausfall des einen oder anderen Faktors auch allein verursacht würden. Dabei kann aber doch auf Grund verschiedener Überlegungen fast mit Sicherheit angenommen werden, daß die wesentlichen Störungen, die man bei einer solchen Versuchsanordnung beobachtet, auf den Vitaminmangel der Nahrung bezogen werden müssen. Bei den Salzen, die in Konkurrenz mit den Vitaminen treten können, muß man nun in erster Linie an diejenigen denken, die wesentliche Bestandteile der Zellsubstanz sind, wie Kalium, Magnesium, Phosphor, Calcium, Jod, Eisen usw. Das Kochsalz nimmt eine Sonderstellung ein; es stellt einen wesentlichen Faktor bei der Regulierung des osmotischen Drucks der gesamten Körperflüssigkeiten dar und kann aus dem Grunde schon nicht entbehrt werden. Kochsalzmangel ruft aber bekanntlich in kurzer Zeit auch noch Störungen hervor, die auf einer mehr spezifischen Wirkung dieses Salzes beruhen, und die sich teils auf die Sekretionsprozesse im Magen beziehen, teils in anderer Richtung geltend machen, vor allem aber auch den Stoffwechsel der organischen Substanz im Körper beeinflussen, indem ein Mehrzerfall an eiweißhaltigem Material eintritt.

Um das Leben des Tieres durch Kochsalzmangel nicht zu verkürzen und die anderen dabei auftretenden Störungen, die nichts mit dem Stoffwechsel der organischen Substanz im Körper zu tun haben, zu vermeiden, wurde der Hund bei dem vorliegenden Versuch nun derart gefüttert, daß er eine an Kali, Magnesium, Phosphor, Calcium, Jod, Eisen usw. arme, aber an Kochsalz reiche Nahrung erhielt, die dann zu alledem vollständig vitaminfrei war.

Über den Einfluß einer salzarmen, aber vitaminreichen Ernährung auf den Gesamtstoffwechsel der organischen Substanz im Körper wissen wir sehr wenig. Immerhin deuten die Beobachtungen, daß Kochsalzanreicherung der Nahrung stickstoffsparend, Kochsalzarmut der Nahrung fördernd auf den Stickstoffzerfall im Körper wirkt, darauf hin, daß ein Einfluß auch bei anderen Salzen vorhanden sein dürfte. Wir haben jedenfalls einen greifbaren Anhaltspunkt für die Auffassung, daß genau, wie wir es für die Vitamine annehmen, auch Salze den Stoffumsatz der organischen Substanz im Körper beeinflussen können, wenn auch überdies bei den Salzwirkungen die Verhältnisse sicher noch komplizierter liegen als bei den Vitaminwirkungen.

Über die Wirkung vitaminfreier und salzhaltiger Nahrung wissen wir, daß hierbei in der Regel eine Körpergewichtsabnahme stattfindet,

die fortschreitet bis zum Tode, abgesehen davon, daß sich noch besondere Krankheitserscheinungen, die durch den Mangel an einzelnen Vitaminen hervorgerufen werden, einstellen (Nervendegeneration, Rachitis, Skorbut). Auffallend wenig Beobachtungen liegen über den Einfluß vitaminfreier salzhaltiger Nahrung auf den Gesamtstoffwechsel vor.

In erster Linie sind hier die Stoffwechselversuche von *Karr*⁴⁾ zu erwähnen, wohl die einzigen, die an einem höheren Tiere, am Hunde, vorgenommen wurden. *Karr* hat sein Versuchstier mit einem Salzgemisch aus Kochsalz, Calciumlactat, Magnesiumcitrat, Eisencitrat unter Zusatz von etwas Jod-Jodkalilösung und einer Nahrung, bestehend aus Weizenkleber oder chemisch reinem Casein, Zucker, Schmalz und Knochenasche, gefüttert. Er beobachtete bis zum 60. Versuchstage eine positive N-Bilanz. Die Arbeit von *Karr* ist aber deshalb unvollständig, weil er den Gaswechsel unberücksichtigt ließ und seine Versuche nicht lange genug bei Vitaminfreiheit der Nahrung durchgeführt hat. *Abderhalden*⁷⁾ hat Gaswechselversuche an Tauben angestellt, die nur mit geschliffenem Reis ernährt worden waren wie das gewöhnlich bei derartigen Versuchen an Tauben gehandhabt wird. Das bedeutet zweifellos eine salzarme Ernährung. Aus diesem Grunde aber können die *Abderhalden*schen Versuche als Ergänzung zu dem hier mitgeteilten Versuche gelten. *Abderhalden* fand, daß bei seinen Tauben in nüchternem Zustande der Gaswechsel herabgesetzt war. So leiten diese *Abderhalden*schen Versuche zur Diskussion derjenigen Ergebnisse über, die bei der Stoffwechseluntersuchung eines Hundes gewonnen wurden, der, wie oben schon gesagt, vitaminfrei, kochsalzreich, aber an anderen Salzen arm ernährt worden war.

Die Versuchsanordnung, die sich in ihren Einzelheiten aus dem nachstehend mitgeteilten Protokoll ergibt, war folgendermaßen gewählt worden. Der zu Beginn des Versuches ca. 11 kg schwere Hund erhielt in einer Vorperiode 50 g getrocknetes Pferdefleisch, 25 g Butter, 50 g Reis, 3 g Kochsalz, 750 ccm Leitungswasser. In der Hauptperiode bekam er 44 g Weizeneiweiß, das von der chemischen Fabrik von Dr. Klopfer in Dresden-Leubnitz uns zur Verfügung gestellt war, 20 g ausgelassenes Schweineschmalz, 60 g Reis, 3 g Kochsalz, 750 ccm Leitungswasser. Der N-Gehalt beider Kostformen war identisch; in der Hauptperiode wurde etwas weniger Fett und mehr Reis als in der Vorperiode aus dem Grunde gegeben, weil in der Vorperiode durch den größeren Fettgehalt der Nahrung der Stuhl nicht konsistent genug war. — Die Tatsache, daß der Hund, wie weiter unten gezeigt wird, in der vitaminfreien Periode 52 Tage fast im N-Gleichgewicht blieb, zeigt, daß der Stickstoff des Weizeneiweißes bei ihm in zureichender Weise den Fleischstickstoff der Vorperiode ersetzte.

Zunächst ist festzustellen, daß der Hund während der ganzen Versuchsdauer die Nahrung tadellos resorbierte. Die Trockenkotmenge in der 20tägigen Vorperiode betrug 109 g. In der 107tägigen Hauptperiode betrug die Trockenkotmenge 527 g. In der Vorperiode produzierte also der Hund täglich 5,4 g, in der Hauptperiode 4,9 g Trockenkot. Die Kotmenge ist also in beiden Perioden fast die gleiche geblieben. In

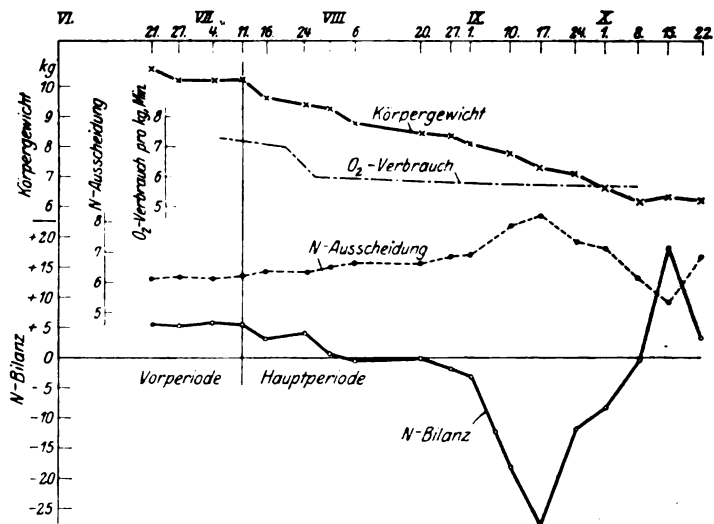
den 109 g Kot der Vorperiode waren 3,7765 g N oder täglich wurden 0,1888 g N mit dem Kote ausgeschieden; in der Hauptperiode enthielten die 527 g Kot 12,0675 g N oder es wurden 0,1128 g N täglich ausgeschieden. In der Hauptperiode war also die N-Resorption gerade so gut wie in der Vorperiode. Man kann annehmen, daß der Stickstoff der Nahrung so gut wie vollständig resorbiert wurde, da die beobachteten N-Werte des Kotes fast den N-Werten des sog. Hungerkotes entsprechen. Auch wenn man einzelne Abschnitte der vitaminfreien Hauptperiode getrennt betrachtet, findet man durchgängig die gleichniedrigen N-Werte des täglichen Kotes. Z. B. betrug in den ersten 42 Tagen der Hauptperiode der tägliche Kotstickstoffwert 0,11673 g, in 44 folgenden Tagen war der Wert 0,0890 g. Gerade in diesen Tagen hat der Hund sehr stark an Körpergewicht abgenommen und wies eine sehr beträchtliche negative N-Bilanz auf, wovon noch die Rede sein wird. Es geht also aus dieser ganzen Rechnung hervor, daß der Hund auch in der Periode seiner stärksten Körpergewichtsabnahme den Nahrungsstickstoff restlos resorbiert hat.

Aus dem Verhalten der Kotmengen und des N-Gehaltes des Kotes muß der Schluß gezogen werden, daß die Resorption der Nahrung durch den Mangel an Vitamin nicht gestört wird. Eine Resorptionsstörung kann also auch nicht die Ursache für die Körpergewichtsabnahme bei vitaminfreier Ernährung sein.

Es erhebt sich nun die Frage, was der Körper mit der resorbierten Nahrung angefangen hat.

Betrachten wir zunächst den Stickstoffstoffwechsel! In der Vorperiode war der Hund so gut wie im N-Gleichgewicht. Er retinierte täglich ca. 0,3–0,4 g. In der Hauptperiode senkte sich mit Beginn der vitaminfreien Ernährung die Kurve, die schwach positive N-Bilanz war am 52. Tage der Hauptperiode schwach negativ geworden, um dann in sehr rapider Weise am 69. Tage der Hauptperiode einen stark negativen Wert zu erreichen; alsdann erhob sich die Bilanz in steilem Anstieg wieder und erreichte am 97. Tage der Hauptperiode einen stark positiven Wert, der alle bisher beobachteten weit übertraf, um bis zum 107. Tage wieder so weit herabzustürzen, daß die N-Ausfuhr dem Werte der N-Einfuhr gleichkam. An diesem Tage starb der Hund. Aus diesem Verlauf der N-Ausscheidung geht hervor, daß in der ersten Periode vitaminfreier Ernährung das N-Gleichgewicht ungefähr behauptet wird, dann aber folgt eine Periode des N-Zerfalles; wenn dieser eine gewisse Größe erreicht hat, wird der gesteigerten N-Ausfuhr Einhalt geboten, ja sogar Stickstoff retiniert, bis dann auch die Retention wieder versagt und mit der erneut einsetzenden verstärkten Ausfuhr von Stickstoff der Tod eintritt. Eine Erklärung für diese Erscheinung der erneuten N-Retention in der der Todesperiode vorangehenden Zeitspanne zu geben, ist schwer.

Es fragt sich, ob diese Stickstoffretention nur eine Ausscheidungsbehinderung von N-haltigen Stoffwechselschlacken bedeutet oder ob Stickstoff wirklich angesetzt worden ist. Eine befriedigende Antwort auf diese Frage steht zur Zeit noch aus. Das Erstere ist vielleicht das Wahrscheinlichere. Ich behalte mir weitere Untersuchungen hierüber vor. — So viel aber lehrt der Verlauf der N-Ausscheidung, daß trotz eines auf das Körpergewicht des Tieres berechneten, genügenden N-Gehaltes der Nahrung und trotz restloser N-Resorption nicht nur der ganze Nahrungsstickstoff wieder ausgeschieden wird, sondern daß der Körper obendrein noch von seinem ursprünglichen Eiweißbestand abgibt. Es muß also entweder die Oxydation des Stick-



stoffes bei vitaminfreier Ernährung unter Vermehrung des normalphysiologischen Sauerstoffverbrauchs gesteigert sein oder der Stickstoff muß in ungewöhnlicher Weise ohne den normalphysiologischen Sauerstoffverbrauch zersetzt worden sein.

Diese Frage führt zur Betrachtung des Gaswechsels bei dem Versuchstiere. Im nüchternen Zustande zeigte der Gaswechsel bei der fortschreitenden vitaminfreien Ernährung eine kontinuierliche Senkung; d. h. der Sauerstoffverbrauch wurde immer geringer. Für die Durchführung der Gaswechselversuche bin ich Herrn Prof. Dr. A. Loewy dankbar verpflichtet.

Da bei der vollständigen Resorption der Nahrung Fett und Kohlenhydrate in einer auf das Körpergewicht des Tieres berechneten genügenden Menge dauernd zugeführt wurden, und da das Tier keinen Gewichtsansatz, sondern im Gegenteil mit dem Fortgang der vitaminfreien

Ernährung eine fortschreitende Körpergewichtsabnahme erkennen ließ, so mußten Fett und Kohlenhydrate der Nahrung im Körper verbrannt worden sein. Es mußte aber obendrein auch noch der ursprüngliche Fett- und Kohlenhydratbestand des Körpers angegriffen worden sein, weil das Tier auch schon in der vitaminfreien Periode des ungefähren N-Gleichgewichts eine beträchtliche Körpergewichtseinbuße erlitten hatte. Aus alledem folgt, daß entweder Fett und Kohlenhydrate unter Vermehrung des physiologischen Sauerstoffverbrauchs verbrannt sein müssen, oder daß die Zersetzung in ungewöhnlicher Weise vor sich ging, wie es oben für die N-Zerstörung schon angedeutet wurde. Tatsächlich wurde aber eine Herabsetzung der Oxydation im nüchternen Zustande gefunden. Man könnte nun daran denken, daß im unmittelbaren Anschluß an die Nahrungsresorption plötzlich eine so stark gesteigerte Oxydation im Körper einsetzte, daß nicht nur die Nahrung, sondern auch obendrein noch ein Teil der Körperbestandssubstanz in der Verdauungsphase mitverbrannt wurde, und daß danach die Oxydation im nüchternen Zustande sich der jeweiligen Protoplasmamasse des Körpers in den verschiedenen Abschnitten des Versuches anpaßte. Denn ausweislich der Gewichtskurve und der N-Kurve muß das Protoplasma sich ja sukzessive vermindert haben. Dann wäre also anzunehmen, daß bei Gaswechselversuchen, die sich über einen ganzen Tag erstrecken, eine gesteigerte Oxydation nachweisbar werden würde, die bei der Anordnung des vorliegenden Versuches nicht zur Anschauung kommen konnte. Auf der anderen Seite aber muß man einen ungewöhnlichen Abbau von Eiweiß, Fett und Kohlenhydrat ohne Steigerung der normal-physiologischen Oxydation erwägen.

Was lehrt nun dieser Versuch für die Theorie der durch vitaminfreie Ernährung hervorgerufenen allgemeinen Stoffwechselstörung der organischen Körpersubstanz?

Bei auf das Körpergewicht berechneter zureichender Nahrung wird die Nahrung resorbiert, aber sie deckt nicht mehr den Bedarf des Protoplasmas an Nahrung. Das Protoplasma wird sogar selbst zerstört, und die Reservestoffe werden aufgebraucht. Der Totalgewichtsverlust des Hundes betrug ca. 4,6 kg; davon entfällt nach Maßgabe des totalen N-Verlustes fast 1 kg auf eiweißhaltige Körpersubstanz, wenn man die letzte 12tägige Periode, nämlich diejenige in der N-Retention auftrat, außer Betracht läßt. Berücksichtigt man sie mit, so ist der Verlust an N-haltiger Körpermasse etwas geringer. Der Protoplasmaschwund ergibt sich auch daraus, daß die Körpergewichtsabnahme 33,6%, die Sauerstoffverbrauchsabnahme aber 47,5% beträgt. Die letztere hat also mehr abgenommen als die erstere; darum muß das oxydierende Material, also die Protoplasmamasse des Körpers abgenommen haben. Ferner wird in großem Umfange der ursprüngliche Fett-Kohlenhydratbestand

des Körpers eingeschmolzen. Auf Fettschwund vor allem und auch auf Kohlenhydratschwund ist ca. $\frac{3}{4}$ des Totalgewichtsverlustes zu beziehen, da für die Annahme einer ungewöhnlichen Wasserverarmung des Körpers kein Grund vorliegt. Nach alledem muß also das Protoplasma seine assimilatorische Fähigkeit verloren oder die Fähigkeit gewonnen haben, in gesteigertem Maße die organische Substanz zu zerlegen, d. h. dissimilatorisch zu wirken. Wenn letzteres der Fall wäre, dann müßte sich entweder während der Verdauungsperiode ein gesteigerter O-Verbrauch nachweisen lassen oder die Zerlegung müßte in einer von der Norm stark abweichenden Form geschehen. Weitere Versuche sollen darüber Aufschluß geben.

Ob nun diese Folgen der vitaminfreien Ernährung durch das Fehlen einer direkten Beeinflussung jeder einzelnen Körperzelle durch die Vitamine oder ob sie etwa durch das Fehlen des Vitamineinflusses auf bestimmte Organe, z. B. Drüsen mit innerer Sekretion, zustande kommen, bedarf ebenfalls weiterer Untersuchungen. In dem vorliegenden Versuche ließen sich bemerkenswerte Veränderungen in der Schilddrüse nachweisen; es ist aber doch sehr fraglich, ob diese Veränderungen eine ätiologische Bedeutung für die beobachtete Stoffwechselstörung haben.

Die bei diesem Tiere beobachtete Stoffwechselstörung hat nun eine gewisse Verwandtschaft mit Störungen, die man unter anderen Versuchsbedingungen oder bei gewissen Krankheiten findet.

Der vitaminfrei ernährte Hund verhält sich in mancher Beziehung wie ein Tier oder ein Mensch im Zustande hochgradiger Unterernährung. In der Tat hungert ja auch der Körper des vitaminfrei ernährten Hundes, ob er auch von Nahrung zureichend durchströmt wird, da die assimilatorische Funktion der Zelle herabgemindert oder die dissimilatorische gesteigert ist, und da diese Störung ein Maß erreicht, bei dem das ursprüngliche Körperbestandsmaterial zerlegt wird. Genau wie beim Unterernährten wird zunächst vornehmlich der Fettbestand des Körpers angegriffen, später erst in höherem Grade das Eiweiß. Genau wie beim chronisch Unterernährten wird auch der Grundumsatz mehr und mehr herabgesetzt und im Verlaufe des Versuches sinkt dieser Umsatz stärker als das Körpergewicht, was für den hungernden Körper ebenso wie für den vitaminfrei ernährten Körper eine Protoplasmaabnahme bedeutet. Alle diese Erscheinungen beim hungernden Körper sind von A. Loewy²⁾ in seinem Aufsatz „Unterernährung“ in ausgezeichnete Weise dargestellt worden, so daß an dieser Stelle nur auf die Loewysche Arbeit verwiesen zu werden braucht.

Weiterhin muß man an gewisse Erkrankungen der Schilddrüse denken, bei denen ein in mancher Hinsicht ähnlicher Einfluß auf den Stoffwechsel obwaltet, wie er bei dem vitaminfrei ernährten Hunde

zutage tritt. Gemeinsam mit dem Hyperthyreoidismus ist der gesteigerte Umsatz an Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten. Gemeinsam mit dem Hypothyreoidismus ist aber der herabgesetzte Gaswechsel im nüchternen Zustande. Es stellt also die Stoffwechselstörung bei der Avitaminose ein eigentümliches Gemisch dar von Hyper- und Hypothyreoidismus, wenn man sie überhaupt einmal mit Schilddrüsenstörungen in Beziehung setzen will. In eine strenge Beziehung zu einer bestimmten pathologischen Schilddrüsenfunktion läßt sie sich nicht bringen.

Es ist ferner hier an den Eiweißzerfall beim Fieber und an die toxische Eiweißzersetzung bei gewissen Fällen von Carcinomatose, Infektionskrankheiten und Anämien, wie bei der Phosphorvergiftung zu erinnern.

In den einen Fällen von vermehrtem Eiweißzerfall, wie überhaupt vermehrtem Zerfall von organischer Substanz handelt es sich um Reize, die entweder in der Norm schon vorhanden sind und bei der Krankheit nur in verstärktem Maße wirksam werden (Schilddrüse), oder die in der Norm überhaupt fehlen, und die bei der Krankheit erst neu auftreten (toxischer Eiweißzerfall), während in den anderen Fällen das fehlende Ersatzmaterial die Ursache für den Zerfall der Körperbestands-substanz wird (Hunger, Unterernährung). Bei der Avitaminose haben wir es mit dem Fehlen einer Substanz zu tun, die entweder direkt jede einzelne Körperzelle oder ein oder mehrere bestimmte Stoffwechselzentralorgane (Drüsen mit innerer Sekretion u. a.) beeinflußt, und zwar in ersterem Falle in dem Sinne, daß die assimilatorische Tätigkeit der Zelle gesteigert oder die dissimilatorische Tätigkeit gebremst wird, im zweiten Falle in dem Sinne, daß den Stoffwechsel regulierende Zentralorgane in ihrer normalen Funktion gestört werden, und daß dadurch indirekt die assimilatorische bzw. dissimilatorische Tätigkeit jeder einzelnen Körperzelle eine Veränderung erfährt. Vom Hungerzustande ist die avitaminöse Stoffwechselstörung dadurch unterschieden, daß beim Hunger das Nährmaterial fehlt, während es bei der Avitaminose vorhanden ist, aber nur nicht physiologisch richtig verwertet werden kann. Die Zelle hungert, obschon Nahrungsstoffe sie reichlich passieren.

Im folgenden möge nun das Versuchsprotokoll mitgeteilt werden.

Analyse der Nahrung. (Vorperiode.)

50 g Pferdefleischpulver	6,259 g N
25 g Butter	—
50 g Reis	0,253 g N
3 g Kochsalz	—
750 ccm Leitungswasser	

Summa: 6,512 g N

Tabelle des Verlaufs der Körpergewichtsbestimmungen und der Harn- und Kot-Untersuchung.

Datum	Körper- Gewicht	Mehr- tägige Summe	Durch- schnittl.	Ge- samt-N im Harne	Mehr- tägige Summe	Durch- schnittl.	Kot-N	Kot-N gegen Nahrungs-N	Harn- u. Kot-N tägliche Summe	Nahrungs-N		Ammo- niak	Mehr- tägige Summe	Durch- schnittl.
										Tägliche Bilanz	% gegen Nahrungs-N			
20. VI.	10,770	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
21. VI.	10,820	63,670	10,610	3,6169	35,7256	5,9543	0,1888	2,850	6,1431	+0,3688	+5,663	0,2406	3,5740	0,7148
22. VI.	10,710	—	—	6,2608	—	—	—	—	—	—	—	0,5422	—	—
23. VI.	10,950	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. VI.	10,400	—	—	10,7653	—	—	—	—	—	—	—	1,6558	—	—
25. VI.	10,300	—	—	8,0794	—	—	—	—	—	—	—	0,4689	—	—
26. VI.	10,300	—	—	7,3660	—	—	—	—	—	—	—	0,6665	—	—
27. VI.	10,150	70,770	10,110	6,6659	41,7617	5,9660	0,1888	2,850	6,1548	+0,3571	+5,483	0,6146	3,7000	0,5286
28. VI.	10,150	—	—	3,6446	—	—	—	—	—	—	—	0,3104	—	—
29. VI.	10,020	—	—	7,5356	—	—	—	—	—	—	—	0,6060	—	—
30. VI.	10,100	—	—	5,0423	—	—	—	—	—	—	—	0,4184	—	—
1. VII.	10,050	—	—	8,3070	—	—	—	—	—	—	—	0,7063	—	—
2. VII.	10,150	—	—	5,5829	—	—	—	—	—	—	—	0,5535	—	—
3. VII.	10,150	—	—	5,4962	—	—	—	—	—	—	—	0,4908	—	—
4. VII.	10,150	70,810	10,116	5,3589	41,3963	5,9138	0,1888	2,850	6,1026	+0,4093	+6,286	0,6478	5,0250	0,7179
5. VII.	10,100	—	—	6,1410	—	—	—	—	—	—	—	0,6630	—	—
6. VII.	10,100	—	—	6,2540	—	—	—	—	—	—	—	0,7701	—	—
7. VII.	10,020	—	—	7,9996	—	—	—	—	—	—	—	0,8512	—	—
8. VII.	10,100	—	—	3,8956	—	—	—	—	—	—	—	0,5902	—	—
9. VII.	10,120	—	—	5,8230	—	—	—	—	—	—	—	0,7937	—	—
10. VII.	10,220	—	—	5,9242	—	—	—	—	—	—	—	0,6820	—	—
Haupt- Periode	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	10,220	50,820	10,160	3,5200	30,4588	6,0917	0,1167	1,778	6,2084	+0,3570	+5,437	—	3,9427	0,7885
12. VII.	10,100	—	—	9,0665	—	—	—	—	—	—	—	1,5133	—	—
13. VII.	10,300	—	—	4,5262	—	—	—	—	—	—	—	0,4236	—	—
14. VII.	10,150	—	—	5,6660	—	—	—	—	—	—	—	1,0342	—	—
15. VII.	10,050	—	—	8,2769	—	—	—	—	—	—	—	0,9716	—	—
16. VII.	10,000	77,350	9,668	7,1548	50,0969	6,2621	0,1167	1,778	6,3788	+0,1866	+2,842	1,1128	8,7119	1,0889
17. VII.	10,000	—	—	5,0791	—	—	—	—	—	—	—	2,1284	—	—

[illegible]

Tabelle des Verlaufs der Körpergewichtsbestimmungen und der Harn- und Kot-Untersuchung.
(Fortsetzung.)

Datum	Körper- Gewicht	Mehr- tägige Summe	Durch- schnitt- lich	Ge- samt-N im Harn	Mehr- tägige Summe	Durch- schnitt- lich	Kot-N	Kot-N gegen Nahrungs-N	Harn- u. Kot-N tägliche Summe	Nahrungs-N	N-Bilanz		Ammo- niak	Mehr- tägige Summe	Durch- schnitt- lich
											Tagliche Bilanz	% gegen Nahrungs-N			
23. VIII.	8,490	—	—	5,5212	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4038	—	—
24. VIII.	8,350	—	—	8,0640	—	—	—	—	—	—	—	—	0,9945	—	—
25. VIII.	8,450	—	—	5,5309	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4731	—	—
26. VIII.	8,440	—	—	7,1050	—	—	—	—	—	—	—	—	0,9867	—	—
27. VIII.	8,400	41,480	8,296	6,0288	32,9611	6,5922	0,1167	1,778	6,7089	6,5654	-0,1439	-2,190	0,5100	3,3673	0,6735
28. VIII.	8,320	—	—	6,4131	—	—	—	—	—	—	—	—	1,2107	—	—
29. VIII.	8,320	—	—	6,7530	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4005	—	—
30. VIII.	8,220	—	—	7,1610	—	—	—	—	—	—	—	—	0,8415	—	—
31. VIII.	8,220	—	—	6,6052	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4046	—	—
1. IX.	8,150	72,237	8,026	6,3504	60,1024	6,6780	0,0890	1,539	6,7670	6,5654	-0,1916	-2,918	0,6564	5,1051	0,5672
2. IX.	8,060	—	—	5,5890	—	—	—	—	—	—	—	—	0,9690	—	—
3. IX.	8,100	—	—	6,9966	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4199	—	—
4. IX.	8,070	—	—	7,0308	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4637	—	—
5. IX.	8,070	—	—	6,9384	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4896	—	—
6. IX.	8,990	—	—	5,1219	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4360	—	—
7. IX.	7,997	—	—	7,5040	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5168	—	—
8. IX.	7,900	—	—	6,7473	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5057	—	—
9. IX.	7,900	—	—	7,8239	—	—	—	—	—	—	—	—	0,5380	—	—
10. IX.	7,830	54,300	7,757	7,2072	53,6851	7,6690	0,0890	1,539	7,7580	6,5654	-1,1926	-18,155	0,4488	4,7290	0,6756
11. IX.	7,700	—	—	8,1863	—	—	—	—	—	—	—	—	1,1842	—	—
12. IX.	7,700	—	—	6,3011	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4536	—	—
13. IX.	7,800	—	—	7,7812	—	—	—	—	—	—	—	—	0,6188	—	—
14. IX.	7,870	—	—	5,6929	—	—	—	—	—	—	—	—	0,3005	—	—
15. IX.	7,750	—	—	10,0800	—	—	—	—	—	—	—	—	0,6323	—	—
16. IX.	7,650	—	—	8,4364	—	—	—	—	—	—	—	—	0,8908	—	—
17. IX.	7,550	51,300	7,320	8,2320	57,1632	8,1662	0,0890	1,539	8,2502	6,5654	-1,6848	-25,661	0,6976	4,9512	0,7073
18. IX.	7,350	—	—	7,6070	—	—	—	—	—	—	—	—	1,3782	—	—
19. IX.	7,350	—	—	8,7066	—	—	—	—	—	—	—	—	0,4131	—	—

[illegible]

Hauptperiode.

44 g Weizeneiweiß	6,259 g N
20 g Schweineschmalz	—
60 g Reis	0,306 g N
3 g Kochsalz	—
750 ccm Leitungswasser	—
Summa: 6,565 g N	

Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl*, das Ammoniak nach der Methode von *Weiss*⁸⁾ bestimmt; der Kot wurde mit Karmin abgegrenzt. Der Gaswechsel wurde nach Anlegung einer Trachealkanüle nach der Methode von *Zuntz-Geppert* bestimmt. Gaswechselversuche (ausgeführt von Herrn Professor Dr. A. Loewy).

Datum	O ₂ -Verbrauch pro Min.	Körpergewicht in Kilo	O ₂ -Verbrauch pro Kilo, Min.
5. VII.	73,55	10,1	7,28
20. VII.	67,10	9,55	7,02
27. VII.	58,05	9,50	6,0
7. X.	38,62	6,70	5,764

*Ergebnisse der Obduktion.**Körpergewicht des Hundes nach dem Tode 6200 g.*

Lunge	127
Leber	240
Niere I	41
Niere II	45
Nebenniere I	0,9
Nebenniere II	0,9
Milz	10,3
Pankreas	18,8
Ovarien I	0,6
Ovarien II	0,3
Schilddrüse I	0,6
Schilddrüse II	0,4

Wassergehaltsuntersuchung.

Leber	80,01%
Muskel	82,90%

Befund der einzelnen Organe (die Sektion wurde 20 Stunden nach dem Tode gemacht):

Milz: atrophisch.

Lunge: leichte Stauung, leichtes Ödem, leichtes Emphysem.

Nebenniere: Ziemlich reichlich Fett in der Rindensubstanz. Doppelbrechende Substanz, besonders in der peripherischen Zone der Rinde vorhanden. In einem Teil war auch Blutstauung zu konstatieren, in der tieferen Schicht der Rinde und in der Marksubstanz waren Blutungen.

Skelettmuskel: Zuweilen sind die Querstreifungen undeutlich (Kunstprodukt?)

Herzmuskel: ohne Besonderheiten.

Leber: Leberzellen enthalten spärliches Fett.

Pankreas: Keine merkbare Veränderung.

Niere: Schwellung, Desquamation, zuweilen Kernschwund in den Zellen am Terminalabschnitt des Hauptstückes und am dicken Schenkel der Henleschen

Schleife. Verfettung der Zellen des Terminalabschnittes. Geronnene homogene Masse in geraden Harnkanälchen.

Schilddrüse: Die Größe der Follikel ist sehr verschieden. Zuweilen sind sie ziemlich groß mit flach kubischen Zellen versehen und enthalten homogene, durch Eosin rötlich färbbare Kolloidsubstanz. Der andere größere Teil der Follikel ist klein, zuweilen leer, meistens aber mit desquamierten Zellen und scholliger, mit Eosin rötlich färbbarer Substanz mäßig gefüllt.

Literatur.

- ¹⁾ C. Funk, Die Vitamine. 1914. — ²⁾ A. Loewy, Unterernährung. Praktische Ergebnisse der gesamten Medizin 2. — ³⁾ A. Bickel, Klin. Wochenschr. 1922. — ⁴⁾ W. Karr, Journ. of biol. Chem. 44, Nr. 2, S. 277—282. 1920; derselbe, ebenda 2 S. 255—276. — ⁵⁾ Susuki, Shimamura u. Odake, diese Zeitschr. 43, 89. 1912. — ⁶⁾ K. Miyadera, diese Zeitschr. 124, 244. 1921. — ⁷⁾ E. Abderhalden, Arch. f. d. ges. Physiol. 187. 1921. — ⁸⁾ Weiss, Münch. med. Wochenschr. 1916, Nr. 5.
-

Beitrag zur Kenntnis der esterbildenden Hefen.

Von
Ulrich Weber.

(Aus dem Gärungsphysiologischen Laboratorium der Landwirtschaftlichen Hochschule Weihenstephan.)

(Eingegangen am 3. Februar 1922.)

Im folgenden wurde der Versuch unternommen, einige Klarheit über die Bedingungen zu gewinnen, unter denen die Bildung wohlriechender Ester bei einigen niederen Pilzen auftritt. In der Literatur ist bisher wenig darüber zu finden, und *F. Ehrlich*, der diesen Gegenstand anlässlich seiner Studien über die alkoholische Vergärung der Aminosäuren berührte, steht mit seinen Arbeiten ziemlich vereinzelt da. Es erscheint daher wünschenswert, diese nach den Arbeitsmethoden der Chemie studierte Frage auch von physiologischer Seite zu betrachten.

Material und Methode.

Ich beschränkte meine Untersuchungen auf 4 Hefen und 2 Organismen aus der Gruppe der Fungi imperfecti, die sämtlich einen starken Geruch nach Ester zeigen. Sie gehören bis auf *Sachsia suaveolens* zu den an der Oberfläche des Nährmediums eine Haut bildenden Organismen, die vielfach als Kahlhefen zusammengefaßt werden. Zur Verwendung kamen:

Willia Saturnus Klöcker,
Willia Odessa n. sp.,
Willia Schneggii n. sp.,
Pichia suaveolens Klöcker,
Oidium suaveolens Krzemecki,
Sachsia suaveolens Lindner.

Sämtliche Organismen wurden der Sammlung des Gärungsphysiologischen Laboratoriums in Weihenstephan entnommen. *Willia Saturnus* und *Pichia suaveolens* stammen aus dem Carlsberg-Laboratorium in Kopenhagen, *Oidium suaveolens* aus einer Originalkultur *Krzemeckis*, *Sachsia suaveolens* aus der Sammlung des Instituts für Gärungsgewerbe in Berlin.

Die Charaktere der 2 neuen Arten sind folgende:

Willia Odessa n. sp. Weber.

Gestalt der Hautzellen in Würze von 10% Bllg. bei 25° C ähnlich der *W. Saturnus* Klöcker. Zellen rund bis oval, 4—6 μ lang. In Riesenkolonien treten bis 15 μ lange, stabförmige Zellen auf. Auf Würze bildet die Art eine stark gefaltete, kreideweiße Haut, die reichlich Bodensatz abgibt. Bei 25° C kultiviert, verliert die Haut nach etwa 1 Woche ihr krauses Aussehen, und ihre Färbung, nimmt einen gelblichen Ton an. Riesenkolonien auf Würzegeatine sehen etwas schleimig aus, sind gelblich und haben am Rande zahlreiche sehr feine Falten. Sporen hutförmig, mit Leiste ca. 4 μ groß. Sie treten sehr selten auf und wurden in alten Saccharosekulturen gefunden.

Der Geruch nach Fruchtester ist in 5proz. Dextrose-Hefewasser*) sehr kräftig und durchdringend.

Die Art vergärt außer Würze Dextrose, Fructose und Saccharose. Sie gärt nicht in Galaktose, Lactose, Maltose, Dextrin. Diese *Willia* wurde aus dem Bier einer Odessaer Brauerei isoliert.

Willia Schneggii nov. sp. Weber.

In Würze von 10% Bllg. bei 25° C ist die Gestalt der Hautzellen ähnlich wie bei *W. anomala* Hansen. Die Zellen sind oval bis langgestreckt, 10—14 μ lang, 4 μ breit. In alten Saccharosekulturen finden sich sehr langgestreckte Zellen. Auf Würze entsteht eine stark gefaltete im Anfang kreideweiße, später gelblich werdende Haut. Zellen, die von der Haut herabsinken bilden einen reichlichen Bodensatz. Auf Würzegeatine gewachsene Riesenkolonien haben Ähnlichkeit mit denen der *W. anomala* Hansen. Die Sporen sind hutförmig und ca. 2 μ groß. Ich fand sie nur in alten Saccharosekulturen. Der Geruch nach Fruchtester ist in 5proz. Dextrose-Hefewasser schwächer als bei *W. Odessa*. Die Art vergärt nur Dextrose und Fructose. Sie gärt nicht in Saccharose, Galaktose, Lactose, Maltose und Dextrin.

Die oben angeführten Organismen wurden als Reinkulturen in Würze gezogen und bei Gebrauch jedesmal nach den üblichen bakteriologischen Methoden in die einzelnen Versuchsgefäße abgeimpft. Als solche dienten Erlenmeyerkölbchen gleicher Größe und Glasart, die 10 ccm Nährlösung enthielten. Die verwendeten Kohlenhydrate sowie Glycerin und Mannit wurden den Lösungen vor dem Sterilisieren zugesetzt, einwertige Alkohole, Säuren und Aminosäuren erst hinterher, unmittelbar vor der Impfung. Eine Infektion wurde aber auch dann nicht beobachtet, da die hautbildenden Hefen, wie schon *Lindner* (8, S. 467) angibt, nicht leicht infiziert werden. Während der Dauer der Versuche wurden die Kulturen bei 25° im Thermostaten gehalten.

1. Vegetative Entwicklung und Esterbildung.

Die erste Frage, die es zu entscheiden galt, war die, ob bei ausreichendem Wachstum unter allen Umständen esterartige Gerüche auftreten. Das ist tatsächlich nicht der Fall, und es lassen sich eine Reihe von Kulturbedingungen herstellen, die ein reichliches Wachstum ermöglichen und doch die Ausbildung des Geruchs nicht zulassen.

*) Der Geruch wurde in Dextrose-Hefewasser festgestellt, da er hier, wie unten ausgeführt ist, besonders deutlich ist.

So findet in reinem Hefewasser bei allen untersuchten Organismen Wachstum statt, das zur Hautbildung führt, ohne daß wahrnehmbarer Estergeruch auftritt. Auch ist bei den verschiedenen Substanzen, die nach der Tabelle dem Hefewasser zugesetzt wurden, das Wachstum der einzelnen Hefen sehr reichlich. Trotzdem unterblieb in etwas weniger als der Hälfte der Fälle das Auftreten von Gerüchen.

Tabelle I.

	Willia Saturnus	Willia Odessa	Willia Schneggii	Oidium suaveolens	Pichia suaveolens	Sachsia suaveolens
Dextrose	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch
Galaktose	—	Geruch	Geruch	Geruch	—	—
Fructose	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch
Saccharose	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	—	—	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch
Lactose	—	—	—	—	—	—
Maltose	—	Geruch	Geruch	Geruch	—	Gärung, Geruch
Dextrin	—	—	—	—	—	—
Glycerin	Geruch	—	—	Geruch	Geruch	Geruch
Mannit	—	—	—	—	—	—
Würze	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch	Gärung, Geruch

Das gleiche Ergebnis: Lebhaftes Wachstum ohne Esterbildung zeigten Kulturen in einer Kohlensäureatmosphäre. Kolben mit 50 ccm 5proz. Dextrose-Hefewasser gefüllt wurden sehr reichlich mit dem Bodensatz alter Kulturen geimpft und durch eingeleitete Kohlensäure die Luft verdrängt. Die Pilze vermehrten sich in der Nährlösung sehr stark, bildeten aber nur eine sehr dünne Haut aus. Bereits nach 24 Stunden fand starke Gärung statt. Ester wurden von allen 6 Organismen nicht gebildet.

2. Esterbildung und Gärung.

Eine gute Entwicklung der Pilze ist also eine noch keineswegs hinreichende Bedingung, um den typischen Estergeruch hervorzubringen. Da er, wie die Tabelle zeigt, bei Zuckerzusatz in einigen Fällen auftritt, in anderen unterbleibt, lag es nahe, Beziehungen zur Vergärung des Zuckers zu vermuten. Als Kennzeichen der Gärung wurde, wie üblich, die Abgabe von Kohlensäurebläschen angenommen. Da sie selten so beträchtlich ist, um sich schon ohne weiteres in den Kulturgefäßen

feststellen zu lassen, benutzte ich die gebräuchlichen Gärungssaccharometer. Sie wurden mit gehopfter Würze von 10% Bllg gefüllt, in der sich die Organismen schnell an der Berührungsfläche von Luft und Flüssigkeit ausbreiten und die Flüssigkeit des offenen Rohrschenkels bald durch herabsinkende Zellen trüben. Diese Zellen sammeln sich an der tiefsten Stelle des U-Rohres an, und von diesem Bodensatz steigen reichlich Gasblasen auf, die, wenigstens zum Teil, in dem geschlossenen Schenkel aufgefangen werden. Nur *Sachsia* verhält sich insofern anders, als sie weder Haut noch Bodensatz bildet, sondern die gesamte Flüssigkeit durchsetzt. Dabei bevorzugt sie, wie die anderen untersuchten Pilze, deutlich den mit der Luft kommunizierenden Schenkel, so daß nur der kleinste Teil des wirklich gebildeten Gases aufgefangen wird.

Die Frage, ob die Haut schon Kohlensäure ausscheidet, suchte ich dadurch zu lösen, daß ich ein mit Würze gefülltes U-Rohr, dessen einer Schenkel am oberen Ende aufgetrieben war und ein abgeschlossenes Luftquantum enthielt, nur an dieser Stelle impfte. (Ich benutzte dazu Lohnstein-Saccharometer, bei denen der Glasstopfen herausgenommen, dagegen der andere weitere Schenkel durch einen paraffinierten Korken verschlossen wurde.) Es bildete sich dann unterhalb des Luftraums eine Haut, aber erst wenn nach deren Ausbildung herabsinkende Zellen die Flüssigkeit trübten, war Abgabe von Kohlensäure nachzuweisen. Sie erreichte ihren Höhepunkt, wenn sich am Boden des Rohres ein dicker Satz von Zellen angehäuft hatte. Die Unterschiede gegen das Verhalten einer untergärigen Hefe sind also bei den untersuchten hautbildenden Arten keineswegs so groß, wie man erwarten sollte*).

In gleicher Weise wie Würze ließ ich Hefewasser mit verschiedenen Zuckern im Saccharometer vergären. Die gleichen Zucker, wie die hierzu verwendeten, wurden auch im hohlgeschliffenen Objektträger nach der Kleingärmethode geprüft. Wie zu erwarten, erhielt ich dieselben Resultate wie bei Benutzung eines Saccharometers. Es können sich aber bei der Kleingärung leicht Fehler einschleichen, und auf solche möchte ich es zurückführen, wenn *Lindner* (7, S. 258, 8, S. 478, 9) für

*) Für das Schweben der Haut auf der Flüssigkeit gibt *Meißner* (zitiert nach *Lajar* 6, S. 307) bei *Mycoderma*arten an, daß es durch zwischen den Zellen festgehaltene Luft erfolgt. Diese Annahme erklärt das Verhalten der von mir untersuchten Arten nicht genügend, da die Zellen auch nach längerem Verweilen unter einer Luftpumpe nicht untersanken. Mir erscheint daher *Lindners* Ansicht (8, S. 461), daß die geringe Benetzbarkeit ihrer Wände die Zellen am Untersinken hindert, sehr wahrscheinlich. Man könnte versuchen, das Schweben auf das Auftreten von Vakuolen im Innern der Zellen zurückzuführen, die mit fettartigen Substanzen gefüllt sind und das spezifische Gewicht herabsetzen. Da sie sich aber besonders häufig in den Zellen des Bodensatzes finden, dürfte diese Erklärungsmöglichkeit unzutreffend sein.

Sachsia suaveolens Vergärung von Lactose, Galaktose und Dextrin angibt. Ebensowenig konnte ich seine Angabe, daß *Oidium suaveolens* in Galaktose gärt, bestätigen. Ich konnte bei beiden Organismen eine Abgabe von Kohlensäure weder bei der Kleingärungsmethode noch im Gärungssaccharometer bei Verwendung von Hefewasser oder *Lindner*-scher Nährlösung feststellen.

Die Resultate der Gärversuche sind in obenstehender Tabelle zusammengestellt, die außerdem noch Angaben über den Estergeruch enthält. Ich bekam sie auf folgende Weise: Hefewasser gleicher Herkunft wurde mit je 5% der in der Tabelle angegebenen Substanzen versetzt und dann zu 10 ccm in Kölbchen abgefüllt. Diese Mengen dürften zur Feststellung der Gerüche genügen, da ich mit 10proz. Zuckerlösungen oder Mengen von 25 ccm 5proz. Zuckerhefewassers keine besseren Ergebnisse hatte. Als riechend wurden die Pilze nur dann bezeichnet, wenn sie wenigstens an einem Tage deutlichen Geruch nach Fruchtester zeigten. Dieser läßt sich in Hefewasser seiner Zeitdauer nach sehr gut begrenzen, da nach seinem Verschwinden die Flüssigkeit entweder überhaupt nicht mehr riecht oder einen ausgesprochen fauligen Geruch annimmt. Schwieriger läßt sich die Dauer des Geruchs für Würze (gehopfte und ungehopfte) feststellen. Bei allen von mir untersuchten Pilzen geht der Estergeruch nach kurzer Zeit, etwa 4–5 Tagen, in einen eigenartigen an gekochten Sellerie erinnernden strengen Geruch über, der sehr lange anhält. Ich habe diesen von den zuerst gebildeten Estern ganz verschiedenen Geruch nicht mehr in meine Betrachtungen einbezogen.

Wie die Tabelle zeigt, ist das Verhalten der einzelnen Arten gegenüber den Zuckern durchaus verschieden. Zwar tritt in Dextrose und Fructose überall Esterbildung auf, die ebenso einheitlich in Lactose, Dextrin und Mannit fehlt, aber bei Galaktose, Maltose und Glycerin ist die Reaktion der einzelnen Pilze durchaus ungleich.

Ebensowenig einheitlich wie das Auftreten sind Stärke und Zeitdauer der Gerüche, obgleich in dieser Hinsicht die einzelnen Zucker einen gleichen Einfluß auf die verschiedenen Pilze auszuüben scheinen. So zeigen in Dextrose und Fructose die 4 untersuchten Hefen alle ein einheitliches Bild. Der esterartige Geruch steigt nach der Impfung schnell an, hat am 2. Tage in der Regel sein Maximum, um dann langsam und stetig abzuklingen. Im Durchschnitt ist der Geruch am 15. Tage nicht mehr wahrnehmbar. Eine ebenso geformte Kurve ist typisch für das Verhalten der Hefen in allen vergärbaren Zuckern. Die beiden Fungi imperfecti, *Oidium* und *Sachsia*, weichen hiervon etwas ab. Bei ihnen bleibt der Geruch auch bei den vergorenen Zuckern relativ schwach und zieht sich bei *Oidium* noch soeben wahrnehmbar lange hin.

Ganz anders ist das Verhalten der Organismen in Nährlösungen mit nicht vergärbaren Zuckern. So riechen in Galaktose 3 Pilze, *W. Odessa*, *W. Schneggii* und *Oidium*, die alle ähnliches Verhalten zeigen. Geruch tritt erst nach 5–12 Tagen auf, um dann, allerdings sehr schwach, einen Monat lang zu dauern. Ähnlich wirkt Glycerin auf *W. Odessa*, *Pichia*, *Oidium* und *Sachsia*. Ich will noch einige Beispiele anführen. In Maltose spätes Auftreten, schwacher Geruch, langsames Abklingen: nur *Sachsia*, die Maltose vergärt, hat wiederum eine an die ebenfalls vergorene Dextrose erinnernde Kurve. Dieser Unterschied zwischen gärenden und nichtgärenden Pilzen tritt auch bei Saccharose hervor, wo die vergärenden eine an Dextrose erinnernde Kurve zeigen, während bei den nichtgärenden *W. Schneggii* und *Oidium* die Gerüche sehr spät auftreten (*Oidium* nach 14 Tagen), schwach und von kurzer Dauer sind.

Die Gerüche sind in all den angeführten Fällen bei der gleichen Hefe in den verschiedenen Zuckern stets gleich, wenn sie auch der Intensität nach erheblich verschieden sein können. Dagegen sind die Gerüche der einzelnen Arten unter sich ausgesprochen verschieden, lassen sich aber durch Worte nicht näher beschreiben. Man findet sie vielfach mit „Essigester“ verglichen. *Ehrlich's* Untersuchungen lassen es also wahrscheinlich erscheinen, daß es sich auch hier um Ester solcher Alkohole handelt, die aus Aminosäuren durch Spaltung des Moleküls in Ammoniak, Kohlensäure und Alkohol gebildet werden.

Da zu dieser „alkoholischen Eiweißgärung“ nach *Ehrlich* die bei der Gärung des Zuckers entstehende Energie nötig ist, ist es auffällig, daß, wie Tab. I für Galaktose, Maltose und Glycerin zeigt, Gerüche ohne gleichzeitige Zuckergärung auftreten können. Bei Glycerin wies *Ehrlich* für *Willia anomala* und *Oidium lactis* nach, daß es ebenso wie Methylalkohol, Äthylalkohol, Milchsäure usw. als Energiequelle dienen kann. Ob Galaktose und Maltose, wie *Lindner* (8, S. 461) angibt, tatsächlich ohne Gärung von den Kahlhefen assimiliert werden können, eine Angabe, die von *Davis*¹⁾ und *Kluger*²⁾ bestritten wird, oder ob eine so geringe Gärung stattfindet, daß Abgabe von Kohlensäure nicht nachzuweisen ist, vermag ich nicht anzugeben. Für die Umwandlung von Isoamylamin in Isoamylalkohol genügt nach *Ehrlich* und *Pischimuka*³⁾ auch bereits ein Wachstum ohne Gärung. Eine Verunreinigung der von *Merk*-Darmstadt bezogenen Zucker durch gärfähigen Zucker halte ich für unwahrscheinlich, da die Art und Weise der Geruchsbildung z. B. in Galaktose ganz anders ist wie in einem der gärfähigen Zucker. Spuren vergärbaren Zuckers könnten nur ganz kurze Zeit hindurch Geruch erzeugen.

Ich möchte hier, ohne auf die Frage nach der Herkunft der für die Eiweißzerlegung nötigen Energie näher einzugehen — die geringe Stärke und lange Dauer des Geruchs lassen eine sehr langsame Vergärung des Eiweißes vermuten, zu der die Atmung die Energie liefern mag —, nur darauf hinweisen, daß diese Tatsache dafür spricht, daß der bei der Zuckergärung entstehende Äthylalkohol keine wesentliche Rolle beim Zustandekommen der Gerüche spielt, während frühere Autoren dazu

neigten, gerade in ihm eine Komponente des Esters zu sehen, wie die häufige Vergleichung des Geruchs mit Essigsäureäthylester zeigt.

3. Esterbildung bei Alkohol- oder Säurezusatz.

Die Entstehung der Ester aus Alkohol und Säuren legte den Gedanken nahe, einen Versuch zu machen, ob es durch Zugabe derartiger Substanzen möglich wäre, qualitativ verschiedene Ester von *einer* Hefe zu erzielen. Ich beschickte daher Kölbchen mit 5% Dextrose-Hefewasser, in dem, wie die Tabelle zeigt, sämtliche Hefen riechen, vor dem Impfen mit je 2% Methyl-, Äthyl-, Propyl-, Butyl- und Amylalkohol. Der Erfolg war bei allen Pilzen der, daß, als nach einigen Tagen der Geruch begann, je nach dem zugesetzten Alkohol die Gerüche durchaus verschieden waren. Sämtliche mit Methylalkohol behandelten Pilze zeigten in ihrem Geruch Ähnlichkeit mit Methylestern, obwohl sie voller und komplizierter rochen. Genau so verhielten sich die Pilze in den anderen Alkoholen; namentlich bei den höheren Gliedern der Reihe, bei Butyl- und Amylalkohol, zeigte sich die Ähnlichkeit mit dem durchdringenden Geruch ihrer Essigester. Der Amylalkohol wirkt zwar als 2proz. Lösung gegeben (also fast als konzentrierte wässrige Lösung) stark verzögernd auf das Wachstum, aber die Hefen entwickeln sich dann doch sehr gut in ihm. Kölbchen, die mit Alkoholzusatz, aber ohne Impfung zur Kontrolle im Thermostaten standen, rochen fast nicht nach Alkohol, und da eine Veresterung auf rein chemischem Wege bei diesen niederen Temperaturen nicht erfolgen kann, wird man die Mitwirkung der Pilze annehmen müssen. Dieselbe Veresterung der Alkohole erhielt ich auch, wenn statt des Hefewassers andere Stickstoffquellen, wie *Küstersche* oder *Lindnersche* Nährlösung, mit Dextrose oder Saccharose verwendet wurden. Eine auffallende Förderung des Wachstums der Kahlhefen durch Alkoholzusatz, wie *Klöcker*⁴⁾ angibt, habe ich nicht feststellen können. Man kann auch die Zuckerzugabe gänzlich einstellen. Die Hefen bilden dann die zu ihrem Gedeihen nötigen Kohlenstoffverbindungen aus den Alkoholen. Ich setzte den unter 1–6 weiter unten aufgeführten Nährlösungen je 2% der verschiedenen Alkohole zu und impfte mit *W. Saturnus*. Die Entwicklung der Hefe war überall gering, und die Gerüche blieben schwach und von kurzer Dauer. In Äthyl-, Propyl- und Butylalkohol fand, wenigstens in einzelnen Fällen, Esterbildung statt. Der Geruch erinnerte, wie bei den noch außerdem mit Zucker versetzten Kulturen, an die Essigester der betreffenden Alkohole. Die mit Methylalkohol versetzten Lösungen rochen niemals. In Amylalkohol trat einmal Geruch auf, von dem aber fraglich blieb, ob er von Veresterung herrührte.

Versuche, auch durch Zusatz von Säuren die entsprechenden Veränderungen der Gerüche zu erhalten, verliefen ergebnislos, trotzdem ich

eine Reihe der bei der Gärung entstehenden Säuren wie Essig-, Bernstein-, Milch-, Ameisen-, Citronen-, Apfel-, Wein-, Propionsäure allein und in Kombination mit den verschiedenen Alkoholen benutzte.

4. Esterbildung bei Veränderung der stickstoffhaltigen Verbindungen.

Ehrlichs Untersuchungen wiesen auf die Möglichkeit hin, durch verschiedene Stickstoffnahrung die Qualität der Gerüche zu ändern. Ich benutzte die im folgenden aufgeführten Lösungen, die auf 100 ccm Leitungswasser enthielten:

1. 0,5 g KNO_3 5 g Dextrose,
2. 0,5 g $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 5 g Dextrose,
3. 0,5 g $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 0,8 g KH_2PO_4 5 g Dextrose,
4. 0,5 g $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ 0,5 g KH_2PO_4 0,025 g MgSO_4 5 g Dextrose (*Lindner*),
5. 0,5 g Pepton 5 g Dextrose,
6. 1 g Pepton 0,3 g KH_2PO_4 0,2 g MgSO_4 5 g Dextrose (*Küster*),
7. Hayducksche Nährlösung,
8. Hefewasser,
9. Würze gehopft,
10. Würze ungehopft,
11. Apfelmost,
12. Apfelwein.

In den Lösungen 1 und 2 entwickelten sich die Pilze gar nicht oder so gering, daß Gerüche nicht auftraten. In 3—7 war die Entwicklung gut, da die Kahlhefen im Gegensatz zu anderen Hefen gerade den Ammoniakstickstoff bevorzugen. Der Geruch war in allen 5 Lösungen übereinstimmend. *Sachsia* mußte bei diesen Versuchen unberücksichtigt bleiben, da sie sich überall so wenig und langsam entwickelte, daß Gerüche nicht auftraten. Anders war es mit den 5 kompliziert zusammengesetzten Nährböden 8—12. In ihnen rochen die Hefen alle unter sich verschieden, wobei die Unterschiede zwischen gehopfter und ungehopfter Würze außerordentlich gering waren.

Dies Verhalten dürfte so zu erklären sein, daß nur in den Lösungen 8—12 den Hefen Aminosäuren qualitativ verschiedener Art zur Verfügung standen, bei deren Zerlegung verschiedene Alkohole und damit auch verschiedene Ester gebildet wurden. In 1—7 fehlen Aminosäuren völlig (Pepton mußte erst zu solchen abgebaut werden), und die Hefe kann hier Aminosäuren nur durch die auch bei normaler Gärung vor sich gehende Autolyse gewinnen [*Ehrlich*²]. Der Geruch hängt somit von den im Plasma der Hefe vorhandenen Eiweißverbindungen ab und ist in den verschiedenen anorganischen Nährlösungen gleich.

Man kann auch durch direkte Zugabe von Aminosäuren den Geruch beeinflussen. So wird Leucin (2% in *Lindnerscher* Nährlösung) von *W. Saturnus*, *W. Odessa*, *W. Schneggii*, *Pichia suaveolens* zu Amylalkohol vergoren, der dann verestert wird, wie der nach einigen Tagen in den Kulturen auftretende Geruch nach Amylester zeigt, der beim

Einatmen den bekannten Hustenreiz hervorbringt. Daß es vorläufig nur gelang, durch Leucin, aber nicht durch die gleichfalls verwendeten Aminosäuren Glykokoll, Alanin oder Tyrosin eine Geruchsveränderung hervorzubringen, wird darauf beruhen, daß Amylester außerordentlich stark riecht und selbst in geringen Spuren deutlich kenntlich ist. Da nach *Neuberg*¹⁰⁾ die Hefen aus Aldehyden Alkohole bilden können, wären auch Versuche mit diesen Substanzen wahrscheinlich erfolgreich. Äußere Verhältnisse machten es mir leider unmöglich, meine Versuche weiter auszudehnen.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse dieser rein physiologischen Untersuchungen lassen sich in folgender Weise zusammenfassen:

Bei den von mir beobachteten Hefen und Fungi imperfecti tritt der für normale Fälle typische Estergeruch nicht unter allen Umständen auf. Es gibt Fälle, wo trotz reichlichster Entwicklung eine Esterbildung nicht stattfindet, wie beim Wachstum in einer Kohlensäureatmosphäre. Ester treten nur dann auf, wenn gleichzeitig eine Vergärung von Kohlenhydraten die zur Zerlegung des Eiweißes nötige Energie liefert oder ein anderer Vorgang, der Energie frei werden läßt, die Rolle der Zuckergärung übernimmt. Durch Alkoholzusatz kann eine qualitative Veränderung des Estergeruchs erzielt werden. Verwendung verschiedener N-haltiger Nährmedien hat nur dann eine Veränderung des Geruchs zur Folge, wenn dadurch gleichzeitig andere Aminosäuren geboten werden. Nach Zusatz von Leucin tritt deutlicher Geruch nach Amylester auf.

Der Estergeruch der hier untersuchten Arten, der unter normalen Bedingungen stets zu beobachten ist, läßt sich also im Experiment sowohl qualitativ wie quantitativ beeinflussen, insofern man es in der Hand hat, die Art des Geruchs zu verändern und ihn auch trotz bester Entwicklung des Pilzes am Auftreten zu hindern.

Literatur.

- ¹⁾ Davis, W. A., Chemical World 1914, ref. in Wochenschr. f. Brauerei **36**, 120, 1920. — ²⁾ Ehrlich, F., Jahrb. d. V. L. B. **10**, 515, 1907. — ³⁾ Ehrlich und Pischimuka, Ber. d. d. chem. Ges. 1912, S. 1006 (dort auch ältere Arbeiten zitiert). — ⁴⁾ Klocker, A., Zentralbl. f. Bakteriol. usw. II. Abt. **35**, 369. — ⁵⁾ Kluyver, A. J., diese Zeitschr. **52**, 486, 1913. — ⁶⁾ Lajar, Handb. d. techn. Mykologie. Jena 1905—1907. — ⁷⁾ Lindner, P., Wochenschr. f. Brauerei **23**, Nr. 21, 1906. — ⁸⁾ Lindner, Mikroskop. Betriebskontrolle in den Gärungsgewerben. 5. Aufl. Berlin 1909. ⁹⁾ Lindner, P., Wochenschr. f. Brauerei 1913, Nr. 34. — ¹⁰⁾ Neuberg und Peterson, diese Zeitschr. **61**, 1914 u. folg. Bände.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M.

E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin,

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris, A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stockholm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien, H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin, O. v. Fürth-Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Hârl-Budapest, F. Hayduck-Berlin, E. Hügglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kochmann-Halle a. S., F. Landolt-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat, A. Loewy-Berlin, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin, J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Mehlhorn-Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Mollsch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Prag, H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Paull-Wien, R. Pfeiffer-Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloßmann-Düsseldorf, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London, J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappeiner-München, K. Thoms-Berlin, H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund, W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertneunundzwanzigster Band

Drittes und viertes Heft

Ausgegeben am 3. Mai 1922



Berlin

Verlag von Julius Springer

1922



CENTER LIBRARY

2 1962



GIFT

Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes im Umfange von 40 Bogen beträgt M. 168.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur,

Herrn Prof. Dr. O. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18,

zu richten.

Die Verfasser erhalten 100 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur 75, weitere gegen Berechnung.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

129. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Heft 3/4. Seite
Berczeller, L.	Über die biologische Wertung der Nahrungsmittel	217
Berczeller, L.	Über die Rolle der Artspezifität der Eiweißkörper in der Ernährung. Leguminosen	239
Berczeller, L.	Über die Rolle des Geschmackes (Instinkt) in der Ernährung. Leguminosen	251
Berczeller, L.	Brotgetreidearten	270
Berczeller, L.	Die Untersuchung des Mahlprozesses	289
Berczeller, L.	Die Untersuchung des Sojamehles	313
Berczeller, L.	Die biologische Korrelation zwischen hauptsächlich eiweiß- und hauptsächlich kohlenhydrathaltiger Nahrung	320
Sarin, E.	Über die Fermente der Verdauungsorgane der Skorpione	359
Walbum, L. E.	Studien über die Bildung der bakteriellen Toxine. I. Mitteilung. Staphylolysin	367
	Berichtigung	444

Über die biologische Wertung der Nahrungsmittel¹⁾.

Von

L. Berzeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Inhaltsverzeichnis.

- I. Einleitung (S. 218).
- II. Über die aktive Wirkung der einzelnen Nahrungsstoffe. (S. 220).
- III. Über die aktive Wirkung der einzelnen Nahrungsmittel auf das Tier (S. 233).
 1. Über die Rolle der Salze in der Ernährung (S. 233).
 2. Über die Rolle der chemischen Zusammensetzung der Eiweißkörper in der Ernährung (S. 235).
 3. Über die akzessorischen Nährstoffe (S. 236).
- IV. Über die Rolle der Artspezifität der Eiweißkörper in der Ernährung. Leguminosen. (S. 239).
- V. Über die Rolle des „Geschmackes“ in der Ernährung. (S. 251).
 - a) Leguminosen (S. 254).
 - b) Brotgetreidearten (S. 270).
 - c) Untersuchung des Mahlprozesses (S. 289).
 - d) Untersuchung des Sojamehles (S. 313).
2. Die biologische Korrelation zwischen hauptsächlich eiweiß- und hauptsächlich kohlenhydrathaltiger Nahrung (S. 320).
 - a) Vergleich der Leguminosen untereinander bei Zugabe eines kohlenhydrathaltigen Nahrungsmittels (Mais) (S. 321).
 - b) Vergleich von Maismehl und Weizenfeinmehl bei Zugabe einer Eiweißnahrung (S. 325).
 - c) Vergleich von Pflanzeneiweiß (Soja) mit animalischem (Milch, Fleisch, Eier) (S. 329).
 - d) Über die Wirkung des Hämoglobins auf die Aufnahme von Pflanzeneiweiß (Soja) (S. 340).
 - e) Die künstliche Veränderung von Mais (S. 343).
 - α) Durch Zusatz von Salz bzw. Zucker (S. 343).
 - β) Durch Kotzusatz (S. 347).
- VI. Allgemeiner Teil (S. 352).
- VII. Zusammenfassung (S. 355).

¹⁾ Erscheint in aufeinander folgenden Mitteilungen.

I. Einleitung.

Die chemisch reine Nahrungstoffe (Eiweiß, Fett und Kohlenhydrate) begleitenden Genußstoffe (Voit), welche den Geschmack und Geruch der menschlichen Nahrungsmittel verursachen, sind in erster Linie nicht Genußstoffe und bilden eben keinen Luxus, sondern sie haben eine, heute nur teilweise bekannte, biologische Bedeutung. Die Tiere ebenso wie der Mensch legen ein viel größeres Gewicht auf irgendeinen dieser Stoffe in der Nahrung als auf den Eiweiß- oder Caloriengehalt derselben, was sehr schön aus der zusammenfassenden Abhandlung von Tangel ersichtlich ist (Handb. der Biochemie der Menschen u. der Tiere 3, 51).

„Die meisten Nährstoffe sind geschmacklos und geruchlos, während die natürlichen Nahrungs- und Futtermittel einen ausgesprochenen Geschmack und Geruch haben, der für ihre Auswahl sowohl beim Menschen wie auch bei allen Tieren in erster Linie bestimmend, ja viel mehr entscheidend ist als ihr Nährstoffgehalt. Der außerordentliche Reiz bei der instinktmäßigen Auswahl der natürlichen Nahrung der Tiere, die bekanntlich mit großer Sorgfalt und hartnäckiger Konsequenz getroffen wird, geht nicht von den Nährstoffen aus; ebensowenig wird die Gier oder Leidenschaft, mit der eine gewisse Nahrung oft bei geringem Hunger verzehrt wird, oder der Abscheu und Ekel, die die Benutzung gewisser Naturprodukte als Nahrung auch bei großem Hunger verhindern, nicht durch die Nährstoffe erweckt.“

In unseren Versuchen hat es sich als am zweckmäßigsten erwiesen, diesem Instinkt zu folgen. Eben daraus können wir lernen, welche Nahrungsmittel große Veränderungen im Tier verursachen. Die natürlichen Instinkte spielen ja eine ähnliche Rolle auch bei der Regulierung des Calorienbedarfs, wie das insbesondere von Ueber betont wurde (Ernährungs- und Stoffwechselkrankheiten. 1914, S. 12).

„Der natürliche Regulator der Calorienzufuhr ist der Appetit, er arbeitet mit erstaunlicher Genauigkeit. Bedenken wir, daß durch diesen Regulator viele Menschen Jahrzehnte hindurch ihr Gewicht völlig konstant erhalten, so daß also der Energieverbrauch durch die Calorienzufuhr stets ganz gedeckt sein muß.“

Der Appetit ist der natürliche Regulator des Calorienbedarfes. Der Instinkt spielt für Geschmack und Geruch der Nahrungsmittel eine ähnliche Rolle. Pathologische Veränderungen können den Appetit nicht zweckmäßig beeinflussen, wie wir das noch später sehen werden. Geschmacks- und Geruchsempfindung können noch viel leichter beeinflußt werden wie der Appetit, was auch sehr leicht daraus erklärt werden kann, daß es sich hier um viel langsamer auftretende Wirkungen handelt. Ebendeswegen ist es von höchster Wichtigkeit, zu untersuchen, wie diese Empfindungen mit der Ernährung zusammenhängen. Es ist eine sehr große Frage, ob lange dauernde Gewohnheiten beim Menschen schon jetzt nicht unzweckmäßige Veränderungen an diesem Instinkt hervorgerufen haben. Selbstverständlich ist es nicht Aufgabe des Laboratoriums, die Beobachtungen am Menschen durchzuführen, aber es ist nur auf Grund exakt durchgeführter Tierversuche möglich, die Erscheinungen zu klären, um die Veränderungen am Menschen erklären zu können, und je exakter der Tierversuch durchgeführt wird, desto sicherer kann er auf den Menschen übertragen werden.

Was die allgemeine Versuchsmethodik anbelangt (Halten der Tiere, Zucht usw.), kann ich mich ganz kurz fassen, da sie in den letzten Jahren wiederholt beschrieben wurde.

Bei meinen Versuchen hat es sich als am zweckmäßigsten erwiesen, sowohl bei Ratten als auch bei Mäusen, die Tiere in Glas-Stoffwechsellkäfigen zu halten, welche so konstruiert sind, daß alle Teile leicht auseinandergenommen werden können. Die Glasteile lassen sich gut durch Waschen reinigen, die alleinstehenden Deckel und Drahteinsätze leicht durch Hitze sterilisieren und auswechseln. Diese Käfige haben auch den großen Vorteil, daß das Futter sehr leicht auswechselbar ist und die Tiere gut beobachtet werden können. Die Tiere sind auch voneinander bezüglich Luftinfektion besser getrennt als in Drahtnetz-käfigen. Bei kleinen Käfigen für Mäuse oder für Ratten bei einseitiger Ernährung haben wir 5 oder 6 Käfige in einem Stativ befestigt, bei den Nahrungsauswahlversuchen bei Ratten 3 größere Glaskäfige.

Die meisten bis jetzt auf diesem Gebiet ausgeführten Versuche, welche sich auf die Erforschung der akzessorischen Nährstoffe beziehen, wurden an weißen Ratten und Mäusen, Meerschweinchen und Tauben ausgeführt, nur einige Versuche an Affen, Hunden, Kaninchen und Katzen. Ich habe die meisten Versuche an Ratten und Mäusen, einige an Schafen ausgeführt. Die Ratten und Mäuse sind deswegen für diese Versuche sehr geeignet, weil die Menge der aufgenommenen Nahrung im Verhältnis zur Größe des Körpers sehr groß ist, so daß man die Wirkung relativ leichter beobachten kann als bei Tieren, bei denen das Körpergewicht im Verhältnis zum Gewicht der Nahrung viel größer ist. Ratten eignen sich zu diesen Versuchen auch speziell wegen des raschen Wachstums.

Deswegen haben schon Osborne und Mendel, McCollum und Hopkins ihre Versuche an weißen Ratten ausgeführt. Die weißen Ratten haben sich auch sehr gut bewährt zur Ausführung jener Versuche, in denen wir die Auswahl verschiedener Nahrungsmittel verglichen haben. Die Prüfung der Nahrungsmittel im langdauernden Ernährungsversuch, die die Instinktversuche ergänzen muß, ist keineswegs neu. Die Bedingungen, unter denen die alten Versuche ausgeführt wurden, wurden aber entweder nicht genügend variiert oder waren überhaupt ungünstig und störten die Versuche so weit, daß die einleitend angeführten Erhaltungsgesetze nicht mit erforderlicher Klarheit und Schärfe zur Beobachtung kamen. Erst die Entwicklung der Stoffwechsellehre hat es möglich gemacht, daß in den letzten Jahren diese Methode in den Händen von Röhm ann, Hopkins, Stepp, Osborne und Mendel, McCollum, Aron u. v. a. zu so schönen Resultaten geführt hat.

In der letzten Zeit hat sich das Interesse der Forscher besonders

den sog. akzessorischen Nährstoffen zugewendet. Es ist aber zweifellos, daß trotzdem noch sehr viele Mängel und ungünstige Wirkungen der Nahrungsmittel unaufgedeckt geblieben sind. Die älteren Versuche gewinnen aber dadurch nur an Interesse und müssen deswegen, trotz der bedeutenden neuen Fortschritte mit in Betracht gezogen werden, zumal sie in vielen Beziehungen die neuen ergänzen.

Die bisherigen Versuche können nach ihrer Fragestellung in 3 Gruppen eingeteilt werden:

1. Die Rolle der Salze in der Ernährung.
2. Die Gruppierung der Eiweißkörper danach, ob sie alle zum Aufbau der tierischen Eiweißkörper notwendigen Aminosäuren enthalten oder nicht.
3. Die Lehre von den akzessorischen Nährstoffen.

Die geschichtliche Reihenfolge der Durchführung dieser Versuche ist auch dieselbe.

Diese Einteilung behalten wir im III. Abschnitt bei, wo wir die aktive Wirkung der einzelnen Nahrungsmittel untersuchen.

II. Über die aktive Wirkung der einzelnen Nahrungsstoffe¹⁾.

Auf Grund der Versuche von Voit hat man lange Zeit angenommen, daß Fleisch und ähnliche eiweißhaltige Nahrungsmittel als ausschließliche Ernährung nicht nur für Fleischfresser, sondern auch für den Menschen genügen. In der zusammenfassenden Abhandlung von Hofmeister ist es genügend deutlich betont, daß reines Muskelfleisch, allein als Nahrungsmittel nicht ausreichend ist, doch lesen wir in der sonst ausgezeichneten Diätetik von Hutchinson²⁾, daß Fleisch als einzige Nahrung das Leben über unendliche Zeiten erstrecken würde (S. 69), eine Behauptung, die durchaus nicht zutrifft. Diesen Vorwurf kann man um so leichter erheben, als sie durch keinerlei Versuche gestützt nichts anderes als eine einseitige logische Konsequenz des Grundsatzes ist, daß Eiweiß im Organismus fortwährend verbraucht wird und, wenn es im selben Maße ständig ersetzt wird, den Organismus eben lebend erhalten kann. Nun haben aber Versuche, und zwar zunächst die von Magendie, gezeigt, daß seine Versuchstiere ohne Fett und Kohlenhydrate ebensowenig leben können wie ohne Eiweiß, ja daß sogar Hunde, auf reine Eiweißkost gesetzt, kürzere Zeit leben als mit Zugaben von Fett und Kohlenhydraten. Diese Versuche jedoch, die von fundamentaler Bedeutung für die biologische Untersuchung der Nahrungsmittel sind und als sicherste Wegweiser zum näheren Verständnis der Nahrungsmittel dienen, gerieten augenscheinlich vielfach voll-

¹⁾ Teilweise wurden die Versuche von Frl. A. Billig ausgeführt.

²⁾ Hutchinson, Food and the principles of dietetics. London 1919.

kommen in Vergessenheit und wurden nie mehr aufgenommen. Ich habe die Versuche von Magendie deswegen mit weißen Ratten wiederholt, weil die meisten der neueren Ernährungsversuche an diesen Tieren ausgeführt wurden.

Meine Versuche ergaben nun in vielen Hinsichten eine Bestätigung. Die weißen Ratten leben im allgemeinen von reiner Stärke oder Zucker (Dextrose und Saccharose) ebenso lange oder sogar oft länger als bei den verschiedensten Arten von Eiweißnahrung, wobei ich hervorheben möchte, daß von mir Naturprodukte, nicht künstlich hergestellte Eiweißkörper verwendet wurden. Die Versuche wurden teils mit Kartoffel-, teils mit Reisstärke angestellt, ohne daß sich wesentliche Unterschiede zwischen den beiden Stärkearten ergeben hätten. Lebensdauer und Gewicht der Tiere sind aus Tabelle I ersichtlich. Es wurden noch nicht ausgewachsene Tiere verwendet, um das Eiweißbedürfnis noch mehr zur Geltung kommen zu lassen.

Tabelle I.

Lebensdauer und Anfangsgewichte der mit reinen Kohlenhydraten gefütterten Tiere.

Futter	Lebensdauer		Anfangsgewicht	
	♂	♀	♂	♀
Kartoffelstärke	7	21	74	62
	7	24	95	73
Reisstärke	18	28	110	75
	27	18	63	63
Glykose	16	16	87	77
	19	16	78	76
Saccharose	18	18	60	82

Auffallend ist zunächst, daß die Weibchen im allgemeinen (mit Stärke ernährt) viel länger lebten als die Männchen. Von den 3 Versuchsmännchen starben 2 am 7. Versuchstag an Pneumonie, nur 1 blieb gesund und überlebte die beiden anderen um 10 Tage. (Es muß bemerkt werden, daß die beiden so kurz lebenden Männchen nicht zur gleichen Zeit in den Versuch eingestellt wurden.) Die Weibchen leben 21, 24 bzw. 28 Tage, welcher Umstand eindeutig beweist, daß im Wachstum befindliche Tiere ausschließlich mit Stärke ernährt, 3 sogar 4 Wochen leben können. Ähnliche Resultate ergaben die Zuckerversuche (es wurde Glykose und Saccharose verabreicht). Von den Tieren erreichten die Männchen eine ebensolange maximale Lebensdauer wie die mit Stärke gefütterten Tiere, 1 Männchen lebte 27 Tage, die Weibchen dagegen haben eine geringere Lebensdauer als die ersterwähnten, sie lebten 16–18 Tage lang. Aus diesen Versuchen geht zunächst hervor, daß die Tiere, mit Stärke ernährt, ziemlich lange leben können, auch ohne die lebenswichtigen Gewebebildner, Salze und Eiweiß, zugeführt zu

Tabelle II. Hungerversuch.

Thermostat (Körpertemperatur)									
Zimmertemperatur					Thermostat (Körpertemperatur)				
Mit Wasser					Mit Wasser				
Datum	Ge- schlecht	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Lebens- dauer	Datum	Ge- schlecht	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Lebens- dauer
23. VI.	♂	87	68	2	23. VI.	♂	88	55	5
	♀	79	55,5	2 1/2		♀	87	58	5 1/2
18. VII.	♂	—	—	—	18. VII.	♂	86	70	5
	♀	75	48,5	3		♀	81	50	6 1/2
23. VII.	♂	108	72	5					
	♀	93	58,5	6					
Ohne Wasser					Ohne Wasser				
Datum	Ge- schlecht	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Lebens- dauer	Datum	Ge- schlecht	Anfangs- gewicht	End- gewicht	Lebens- dauer
23. VI.	♂	72	—	3	23. VI.	♂	82	49,2	3
	♀	100	—	3 1/2		♀	88	46,15	5
18. VII.	♂	71	50,5	4	18. VII.	♂	77	58	4
	♀	65	46	5 1/2		♀	71	52	4
23. VII.	♂	91	56	5					
	♀	90	60	5					

erhalten. In weiterer Verfolgung zeigen die Versuche aber auch, daß die Stärke- und Zuckertiere sich in mancher Hinsicht ganz ähnlich verhalten, ein Umstand, der die Kohlenhydrat-ernährung einer näheren physiologisch-chemischen Prüfung wert erscheinen läßt. An dieser Stelle kann nicht auf alle mehr oder minder interessanten Begleiterscheinungen der Versuche eingegangen werden, von den einzelnen Organveränderungen soll nur der unglaubliche Muskelschwund — die Rückenmuskulatur verschwindet fast vollständig — erwähnt werden.

Sehr instruktiv sind die Resultate von Versuchen, die zur Ergänzung der eben besprochenen angestellt wurden und sich auf die Lebensdauer von jungen Ratten und deren Gewichtsveränderung bei absolutem Hunger beziehen. Diese Daten finden sich in folgender Tabelle II.

Ganz unabhängig von öfters variierten Bedingungen, mit und ohne Verabreichung von Trinkwasser, bei Zimmertemperatur oder im Thermostat bei Körpertemperatur gehalten, ist die Lebensdauer der hungernden Tiere eine beträchtlich kürzere als diejenige der nur mit Kohlenhydraten ernährten. Ohne Kohlenhydrate leben die Tiere nur die Hälfte oder ein Viertel so lange als mit ihrer Hilfe. Besonders auffallend ist die aus diesen Versuchen hervorgehende Tatsache, daß die Lebensdauer der Tiere nur minimal verlängert wird, wenn man die Wärmeabgabe nahezu aufhebt (durch das Halten bei Körpertemperatur). Es erübrigt noch die Feststellung, daß bei höherer Tem-

peratur die Wasseraufnahme die Lebensdauer verlängert, bei Zimmertemperatur nicht. Die Schwankungen sind aber viel zu gering, um die maximalen Lebensdauerwerte des Hungerns mit den minimalen der Kohlenhydratnahrung einander auch nur zu nähern¹⁾.

Weiter wurden Tiere mit Eiweißkost einseitig ernährt und zwar Fleisch, Eier und Hefe bzw. Nährhefe verwendet. Diese Nahrungsmittel wurden roh und gekocht gereicht. Es ergab sich für die mit rohem Fleisch gefütterten Tiere eine Lebensdauer von 1, 4, 6 Tagen, ein einziges Tier lebte 34 Tage lang. Von gekochtem Fleisch lebten beide Tiere 3 Tage lang. Die Lebensdauer der mit rohen Eiern ernährten Tiere betrug 4, 5 und 17 Tage, der mit gekochtem Ei gefütterten 4 bzw. 10 Tage. Ein Tier von dreien gewöhnte sich an die Kost und lebte monatelang ausschließlich von Eiern. Auffallend kurz leben die Tiere von Hefe. Und zwar von roher 1 Tag lang, von gekochter nicht einmal so lange. Nährhefe als alleiniges Nahrungsmittel erstreckt das Leben auf 7—8 Tage.

Besonders bemerkenswert ist es, daß wir auch bei einer größeren Anzahl keinen einzigen Fall beobachten konnten, in dem eines der Tiere sich an Backhefe gewöhnt hätte und somit die Lebensdauer verlängert worden wäre.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß Ratten, einseitig mit reichlicher Eiweißkost genährt, im allgemeinen kürzer leben als bei ausschließlicher Kohlenhydratkost, ja sogar bei manchen Eiweißarten, insbesondere Hefe, kürzer als bei absolutem Hunger. Versuche mit gereinigten Eiweißkörpern ergeben noch mehr stringente Resultate, da die Tiere noch kürzer leben. Wir wollen aber auf diese Versuche nicht näher eingehen, weil auch die Herstellungsmethode scheinbar eine große Rolle spielt und den Versuchen mit hauptsächlich eiweißhaltigen, natürlichen Nahrungsmitteln doch genügend Beweiskraft innewohnt.

Diese Erscheinungen sind bestimmt zum großen Teil durch die Darmwirkung der verschiedenen Eiweißarten und verwendeten Nahrungsmittel hervorgerufen, die aber ihrerseits zweifellos mit deren allgemeiner Wirkungsart parallel geht. Der schnelle Nahrungswechsel verursacht bei den Ratten schwere Darmerkrankungen (Vergiftung) und dadurch eine Verkürzung der Lebensdauer. Es ist aber auch sicher, daß die Wirkungsart der Eiweißkörper nicht nur von ihrer Qualität abhängt, sondern auch von den Umständen, unter welchen sie in den Darm eingeführt werden. Demnach scheint es nicht ein Zufall zu sein.

¹⁾ Die Haltung der Tiere im Thermostat geschah bei ständiger Luftdurchleitung, und zwar wurde mittelst des Schlauches einer Wasserstrahlpumpe die verbrauchte Luft abgesaugt, die frische konnte durch eine Öffnung in der Brutkastenwand eindringen. Die Temperatur schwankte zwischen 35,5 und 37,5.

wenn es nur mit rohem Eigelb (das rohe Eiweiß verschmähen die Tiere absolut) gelungen ist, die Tiere längere Zeit am Leben zu erhalten, da dieses genannte sehr viel Fett und auch Kohlenhydrate enthält. Denn nach den Versuchen von Schott¹⁾ und Henriquez²⁾ ist es das Eigelb, welches intravenös nicht giftig wirkt.

Der Unterschied zwischen Nährhefe und Backhefe geht auch mit der Ausnutzbarkeit parallel. Nach Völtz³⁾ wird die Nährhefe viel besser ausgenutzt als, nach Versuchen von Schill⁴⁾, die Backhefe. In bezug auf die Hefe hat schon Funk darauf aufmerksam gemacht, daß sie als alleinige Eiweißquelle nicht so zweckmäßig erscheint, wie Osborne und Mendel angegeben haben, welche Meinungsdivergenz auf die Versuchsmethodik der beiden letztgenannten Autoren beruhen dürfte. Wie wir noch später sehen werden, spielt die Fettmenge der Nahrung bestimmt eine Rolle, auch in dem Sinne, daß sie die Lebensdauer der mit Stärke allein ernährten Tiere verlängert. Auf diese Weise leben auch die Tiere von den hier benützten komplizierten Eiweißmischungen viel länger als von reinen Eiweißkörpern allein, was dahingehende Versuche ergeben haben. Die Versuche wurden mit Ovalbumin, Serumalbumin, Casein, Hämoglobin usw. ausgeführt.

Diese Versuche beweisen, daß das Eiweiß nicht als wichtigster Bestandteil der Nahrung überschätzt werden darf. Die Energielieferung kommt in erster Linie den Kohlenhydraten zu, während die Eiweißkörper im lebenden Organismus die Rolle des Zellaufbaumaterials übernehmen, wobei keineswegs behauptet werden soll, daß einem Nahrungsstoff eine Haupt-, den anderen eine Nebenwirkung zukommt. Nur im Gegensatz zu der so allgemein verbreiteten Überschätzung der Wichtigkeit des Eiweißes soll auf die — wenigstens gleich bedeutsame — Rolle der Kohlenhydrate hingewiesen werden.

Das Ziel der weiteren Versuche war, zu entscheiden, welche spezielle biologische Bedeutung den Fetten zukommt. Diese Frage habe ich zunächst in der Weise zu lösen versucht, daß ich Tiere mit Kohlenhydrat- und Fettmischungen einseitig ernährt habe. (In konsequenter Durchführung der Versuche hätten natürlich auch Eiweiß-Fettmischungen gereicht werden müssen, davon mußte ich jedoch vorläufig absehen, weil die Veränderung der Eiweißkörper durch die Reinerstellung nicht nur sehr beträchtlich ist, sondern auch in ihrer Art unbekannt und die künstlich hergestellten Eiweißkörper vor ihrer Verwendung in einem komplizierten System einer biologischen Prüfung unterworfen werden müssen.)

¹⁾ Schott, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **112**, 5, 403.

²⁾ Henriquez, Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 194. 1914.

³⁾ Völtz, Naturwissenschaften 1916, H. 47.

⁴⁾ Schill, diese Zeitschr. **87**, 163.

1. Stärke + Ölmischungen.

Für die Versuche wurde Olivenöl verwendet, die Resultate sind in folgender Tabelle zusammengefaßt.

Tabelle III.

Lebensdauer und Anfangsgewicht der mit Stärke + Olivenöl gefütterten Tiere.

Futter	Lebensdauer		Anfangsgew.	
	♂	♀	♂	♀
Stärke + 5% Olivenöl	41	42	90	70
" 10% "	41	43	90	85
" 20% "	38	33	80	70
" 50% "	4	29	70	75
" 70% "	24	24	65	80

Durch Zusatz von geringen Quantitäten 5–10 proz. Öls wird die Lebensdauer bedeutend verlängert. Auffallenderweise ist sie aber bei 50% Fettgehalt am kürzesten, ein Männchen lebt nur 4 Tage (es ist aber möglicherweise einer interkurrenten Krankheit erlegen), eine Tatsache, die wir noch später wiederholt bestätigt finden. Die Verlängerung des Lebens bei Stärke mit 5–10% Fett gegenüber reiner Stärke beträgt das Doppelte oder noch mehr. Den Mechanismus der Ölwirkung können wir nicht näher erklären. Die Abmagerung ist, wie aus Tabelle V ersichtlich, eine ganz allmähliche, doch lassen sich darin in den einzelnen Versuchen, wie Tabelle IV zeigt, ganz charakteristische Unterschiede nachweisen.

Die Gewichtsabnahme bis zum Tode ist bei solchen Tieren, welche einen beträchtlicheren Ölzusatz erhielten, viel größer als bei jenen mit geringen Ölgaben. Bei den letzteren sogar kleiner als bei den mit Stärke allein gefütterten. Diese Gesetzmäßigkeit tritt besonders klar bei den Weibchen hervor. Ursache dafür kann kaum der Schutz der Kohlenhydrate vor der Ptyalinwirkung durch die Umhüllung

Tabelle IV.
Gewichtsveränderungen der mit Stärke und Olivenöl gefütterten Ratten.

Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀			♂	♀			♂	♀
Stärke + 5% Olivenöl	13. V.	90	70	Stärke + 10% Olivenöl	13. V.	80	70	Stärke + 50% Olivenöl	13. V.	70	65
	28. V.	80	50		28. V.	65	55		18. V.	70	60
	30. V.	75	50		30. V.	65	55		28. V.	60	50
	10. VI.	70	50		10. VI.	60	45		30. V.	55	43
	18. VI.	67	46		15. VI.	55	40		6. VI.	30	30
Stärke + 5% Olivenöl	23. VI.	+	55	Stärke + 20% Olivenöl	18. VI.	60	40	Stärke + 70% Olivenöl	11. VI.	49	43
	24. VI.				20. VI.	+	+				

mit Fett sein, da dieselbe Erscheinung auch bei Zucker eintritt und zudem dem Tiere energetisch das Fett zur Verfügung stände.

Tabelle V.

Gewichtsveränderungen in % der mit Stärke + Olivenöl gefütterten Ratten.

Futter	Gewichtsabnahme in %	
	♂	♀
Stärke + 5% Olivenöl	—	21,4
" 10% "	—	34
" 20% "	25	42,8
" 50% "	—	34,6
" 70% "	55,5	46,25

Aus diesen Versuchen ist ersichtlich, daß das Öl bzw. Fett in der Nahrung einen ganz speziellen Einfluß auf die Verbrennung der Kohlenhydrate ausübt. Das Verhalten der verschiedenen Fette zu untersuchen war die Aufgabe der folgenden Versuche.

2. Stärke + Talgmischungen.

Tabelle VI.

Lebensdauer und Anfangsgewicht der mit Stärke + Talg gefütterten Tiere.

Futter	Lebensdauer		Anfangsgewicht	
	♂	♀	♂	♀
Stärke + 5% Talg . .	24	40	75	135
" 10% " . .	29	4	125	75
" 20% " . .	35	31	125	74
" 30% " . .	35	—	132	72
" 50% " . .	3	3	72	70
" 70% " . .	29	29	71	67

Zunächst sollte die Abhängigkeit der Wirkung der Fette von ihrem Schmelzpunkte festgestellt werden. Es erwies sich aber, daß die mit Talg (es wurde ausgelassener Hammeltalg verwendet) in steigenden Prozentsätzen vermischte Stärkenahrung qualitativ dieselben Wirkungen zeigt wie die mit Öl versetzte. Durch 5 proz. Zusatz wird die Lebensdauer am meisten erhöht, nicht so sehr durch 10 proz. (ein Tier zeigte ein ganz abweichendes Verhalten). Bei 50% Talg-Stärkenahrung erreicht die Lebensdauer der Tiere in diesem Versuche ihr Minimum, das bedeutend unter dem der absolut reinen Stärke liegt, ja sogar kürzer ist als die Lebensdauer von hungernden Tieren. Die Lebensdauer der Öltiere ist im allgemeinen bei den geringeren Fettzusätzen länger als die der entsprechenden Talgtiere. Nur bei 70% Zusatz leben beide Talgtiere etwas länger als beide Öltiere. Wenn auch diese

Versuche wegen der geringen Auswahl, die innerhalb der Versuchstiere möglich war, für einen quantitativen Vergleich nicht genügen, ist doch ein Unterschied zwischen Olivenöl und Talg unbedingt nachweisbar.

Auch die Veränderung des Gewichts ist ganz ähnlich wie im Ölversuch. Es verlaufen nämlich die Gewichtsabnahmen ganz allmählich, ähnlich wie Versuche mit den Öl-Stärkemischungen.

Tabelle VIII.
Gewichtsveränderungen in % der mit Stärke + Talg gefütterten Ratten.

Futter	Gewichtsabnahme in %	
	♂	♀
Stärke + 5 ⁰ / ₀ Talg . .	38,6	51,7
" 10 ⁰ / ₀ "	39	40
" 20 ⁰ / ₀ "	42,4	43
" 30 ⁰ / ₀ "	42,4	—
" 50 ⁰ / ₀ "	23,6	21,4
" 70 ⁰ / ₀ "	47,8	41,8

Bei den mit Talgmischungen gefütterten Männchen sehen wir dieselbe Gesetzmäßigkeit wie im Ölversuch, insofern als die prozentuelle Gewichtsabnahme bis zum Tode um so größer ist, je höher der Fettzusatz (mit Ausnahme von 50% Talgzusatz, da in diesem Falle die Tiere gleich nach Beginn des Versuches sterben). Dieser Gesetzmäßigkeit entziehen sich die Weibchen. Ihre Gewichtsabnahme ist proportional der Lebensdauer, nur das mit 10% Talgzugabe ernährte Weibchen zeigt eine sehr beträchtliche Gewichtsabnahme, obwohl es nur 5 Tage lang lebte.

3. Stärke + Buttermischungen.

Die Lebensdauerkurve der mit Stärke-Buttermischungen (es wurde ausgelassene Butter verwendet) in steigendem Prozentgehalt gefütterten Tiere zeigt gegen die

Tabelle VII.
Gewichtsveränderungen der mit Stärke + Talg gefütterten Ratten.

Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀
Stärke + 5 ⁰ / ₀ Talg	21. VI.	71	67
	25. VI.	64	60
	29. VI.	57	53
	8. VII.	52	47
Stärke + 70 ⁰ / ₀ Talg	20. VII.	37+	39+
Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀
Stärke + 50 ⁰ / ₀ Talg	21. VI.	72	70
	24. VII.	55+	55+
Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀
Stärke + 30 ⁰ / ₀ Talg	21. VI.	132	72
	25. VI.	132	70
	29. VI.	115	63
	8. VII.	101	57
Stärke + 20 ⁰ / ₀ Talg	20. VII.	95	
	26. VII.	76+	
Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀
Stärke + 10 ⁰ / ₀ Talg	21. VI.	125	74
	25. VI.	125	74
	29. VI.	105	69
	8. VII.	94	47
Stärke + 5 ⁰ / ₀ Talg	20. VII.	84	42
	22. VII.	72	+
	26. VII.		
Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀
Stärke + 5 ⁰ / ₀ Talg	21. VI.	75	135
	25. VI.	70	118
	29. VI.	65	107
	8. VII.	49	91
Stärke + 5 ⁰ / ₀ Talg	15. VII.	46+	88
	20. VII.		72
	29. VII.		66+
	31. VII.		

Tabelle X.
Gewichtsveränderungen der mit Stärke + Butter gefütterten Tiere.

Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀			♂	♀			♂	♀			♂	♀
Stärke + 5% Butter	21. VI.	97	85	Stärke + 10% Butter	21. VI.	85	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	117	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	103	82		25. VI.	78	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	94	72		29. VI.	65	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	80	57		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	77+	—	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—
Stärke + 5% Butter	21. VI.	80	72	Stärke + 10% Butter	21. VI.	80	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	110	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	75	65		25. VI.	68	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	67	55		29. VI.	62	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	65	51		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	54	42	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—
Stärke + 5% Butter	21. VI.	80	72	Stärke + 10% Butter	21. VI.	80	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	110	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	75	65		25. VI.	68	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	67	55		29. VI.	62	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	65	51		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	54	42	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—
Stärke + 5% Butter	21. VI.	80	72	Stärke + 10% Butter	21. VI.	80	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	110	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	75	65		25. VI.	68	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	67	55		29. VI.	62	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	65	51		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	54	42	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—
Stärke + 5% Butter	21. VI.	80	72	Stärke + 10% Butter	21. VI.	80	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	110	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	75	65		25. VI.	68	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	67	55		29. VI.	62	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	65	51		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	54	42	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—
Stärke + 5% Butter	21. VI.	80	72	Stärke + 10% Butter	21. VI.	80	105	Stärke + 20% Butter	21. VI.	110	115	Stärke + 30% Butter	21. VI.	110	80
	25. VI.	75	65		25. VI.	68	110		25. VI.	112	115		25. VI.	110	82
	29. VI.	67	55		29. VI.	62	105		29. VI.	100	102		29. VI.	105	70
	8. VII.	65	51		4. VII.	57+	—		8. VII.	90	94		8. VII.	97	57
Stärke + 5% Butter	19. VII.	54	42	Stärke + 10% Butter	14. VII.	—	67+	Stärke + 20% Butter	18. VII.	74	88	Stärke + 30% Butter	16. VII.	67+	52
									20. VII.	75	79		20. VII.	—	48+
									21. VII.	+	+		21. VII.	—	—

vorher beschriebene von Stärke-Öl resp. Stärke - Talgmischungen bedeutsame Abweichungen. Das Minimum bei 50% ist ein absolut viel höheres. Die Maxima werden bei 20% resp. 70% erreicht, also die Lebensdauer durch Butter mehr verändert als durch alle anderen Fettarten. Die Verhältnisse scheinen also bei Butternahrung anders zu liegen wie bei Verwendung der anderen Fette¹⁾, sie werden wahrscheinlich schon durch die Wirkung des fettlöslichen Nährfaktors kompliziert. Im Prinzip entsprechen aber die beobachteten Erscheinungen den in obigen Versuchen beschriebenen, daß der Zusatz von Fett zu der Stärkenahrung die Lebensdauer der Tiere verlängert.

Tabelle IX.

Lebensdauer und Anfangsgewichte der mit Stärke + Butter gefütterten Tiere.

Futter	Lebensdauer		Anfangsgewicht	
	♂	♀	♂	♀
Stärke + 5% Butter	28	—	97	85
" 10%	13	23	85	105
" 20%	44	44	117	115
" 30%	27	30	110	80
" 50%	25	14	80	82
" 70%	40	44	80	72

Die prozentuelle Abnahme des Gewichtes bis zum Tode entspricht vollständig der im Talgversuch beobachteten, nur die absoluten Abnahmen sind geringer. Eine Ausnahme bilden die mit 5% Fettzusatz ernährten Tiere, die bei Butterzusatz die maximale, bei Talg dagegen die minimale Gewichtsabnahme aufweisen.

¹⁾ Wie auch Noorden in bezug auf den Diabetes beschreibt.

Tabelle XI.

Gewichtsveränderungen in % der mit Stärke + Butter
gefütterten Ratten.

Futter	Gewichtsabnahme in %	
	♂	♀
Stärke + 5% Butter	20,6	—
" 10% "	32,9	37,1
" 20% "	35,9	31
" 30% "	39	40
" 50% "	47	40,2
" 70% "	51,2	56

4. Stärke + Paraffinölmischungen.

Tabelle XII.

Lebensdauer und Anfangsgewicht der mit Stärke und Paraffinöl
gefütterten Tiere.

Futter	Lebensdauer		Anfangsgewicht	
	♂	♀	♂	♀
Stärke + 5% Paraffinöl	8	—	84	67
" 10% "	10	8	75	75
" 20% "	4	5	70	70
" 30% "	3	3	77	79
" 50% "	2	2	68	68

Mit Hilfe dieses Versuches sollte festgestellt werden, inwieweit bei der bis jetzt beobachteten Fettwirkung rein physikalische Vorgänge im Darm in Betracht kommen. Wir konnten nämlich beobachten, daß im Kot der Tiere große Quantitäten unverdauter Stärke ausgeschieden werden. Bei Verwendung von Paraffinöl zeigt aber der Versuch, daß die lebensverlängernde Wirkung der Fette durch eine Darmwirkung derselben kompliziert und diese letztere der ersteren entgegenwirkt und sie verkleinert. Denn die Tiere, welche mit Stärke-Paraffinölgemischen gefüttert werden, sterben nicht nur viel früher als alle bis jetzt angeführten Vergleichstiere, sondern auch früher als die Stärketiere. Eine Tatsache, die sich besonders bei den Werten von 10–30% Ölzusatz bemerkbar macht. Diese Lebensdauerkurve erreicht das Maximum bei 10% Paraffinölzusatz und das Minimum wird nach einem auffallenderweise quantitativ abgestuften Verlauf (über 20 und 30%) bei 50proz. Zusatz erreicht. Die Lebensdauer der mit 20% Paraffinöl-Stärkemischungen ernährten Tiere ist ebenso lange wie die der hungernden. Trotzdem ist die Annahme, daß die Tiere, denen diese Nahrung vorgesetzt wird, dieselbe verschmähen und auf diese Weise de facto hungern, ausgeschlossen, da wir die mit höher-

Tabelle XIII.
Gewichtsveränderungen der mit Stärke + Paraffinöl gefütterten Ratten.

Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte		Futter	Datum	Gewichte	
		♂	♀			♂	♀			♂	♀			♂	♀
Stärke + 5% Paraffinöl	29. VI. 7. VII. 11. VII.	84	60	—	29. VI. 7. VII. 8. VII. 9. VII.	75 75 60 60+	75 55+	Stärke + 10% Paraffinöl	29. VI. 3. VII. 4. VII.	70 55+	70 47+	Stärke + 20% Paraffinöl	29. VI. 2. VII.	77 75+	79 73+
												Stärke + 50% Paraffinöl	29. VI. 1. VII.	68 52	68 50

prozentigem Paraffinölzusatz gefütterten Ratten früher sterben sehen als die absolut hungernden Tiere (siehe Tabelle). Man kann eine aktive Giftwirkung vollkommen ausschließen in dem Sinn, als sie auf das aufgesaugte Paraffinöl zurückzuführen wäre. Vielmehr müssen wir annehmen, daß dieses nur auf den Darm wirkt. Daß die Wirkung des Paraffinöles auch nicht mit der Hungerwirkung identisch ist, beweist ferner die geringe Gewichtsabnahme der Tiere. Sie sterben nicht infolge des Hungers, sondern weil im Darm eine fremde Substanz vorhanden ist, wodurch sie nicht nur die Stärke nicht so verwenden können wie die anderen Tiere, sondern sie können ihr Leben nicht so lange fristen wie Hungertiere¹⁾).

Tabelle XIV.

Gewichtsveränderungen in % der mit Stärke und Paraffinöl gefütterten Ratten.

Futter	Gewichtsabnahme in %	
	♂	♀
Stärke und 5% Paraffinöl	16,7	—
" " 10% " "	20	26,6
" " 20% " "	32,8	—
" " 30% " "	2,6	7,5
" " 50% " "	23,5	26,4

Am klarsten ersichtlich ist die Wirkung der Fettanteile der Nahrung aus folgendem Diagramm, in dem die Lebensdauer der Tiere aus den einzelnen Versuchen eingezeichnet ist.

Diese Versuche stellen eine weitere Ausnahme vom Isodynamiegesetz dar. Das zweckmäßigste Brennmaterial quoad vitam sind die Kohlenhydrate, ihr Verbrennungsprozeß wird durch kleinere Quantitäten von Fett vorteilhaft beeinflusst. Die Versuche zeigen auch, daß Hungern nicht gleichbedeutend ist mit

¹⁾ Durch subcutane Injektionen mit dem benutzten Paraffinöl einerseits, mit physiol. NaCl-Lösung andererseits, die des öfteren mit Paraffinöl ausgeschüttelt wurde, konnten wir an Ratten keinerlei Giftwirkung beobachten, auch keinen Einfluß dieser Eingriffe auf ihre Ernährung.

einem Verbrauch der Organe, denn auf diese Weise wäre die Fettwirkung nicht zu erklären. Die Resultate bieten eine gute Illustration für die aktive Wirkung der Nahrungsstoffe. Durch unsere Versuche wird ein vollständiger Beweis hierfür erbracht. Nur einige Literaturbeispiele, die ähnliche Erscheinungen beschreiben, ohne die Zusammenhänge klären zu können, sollen erwähnt werden.

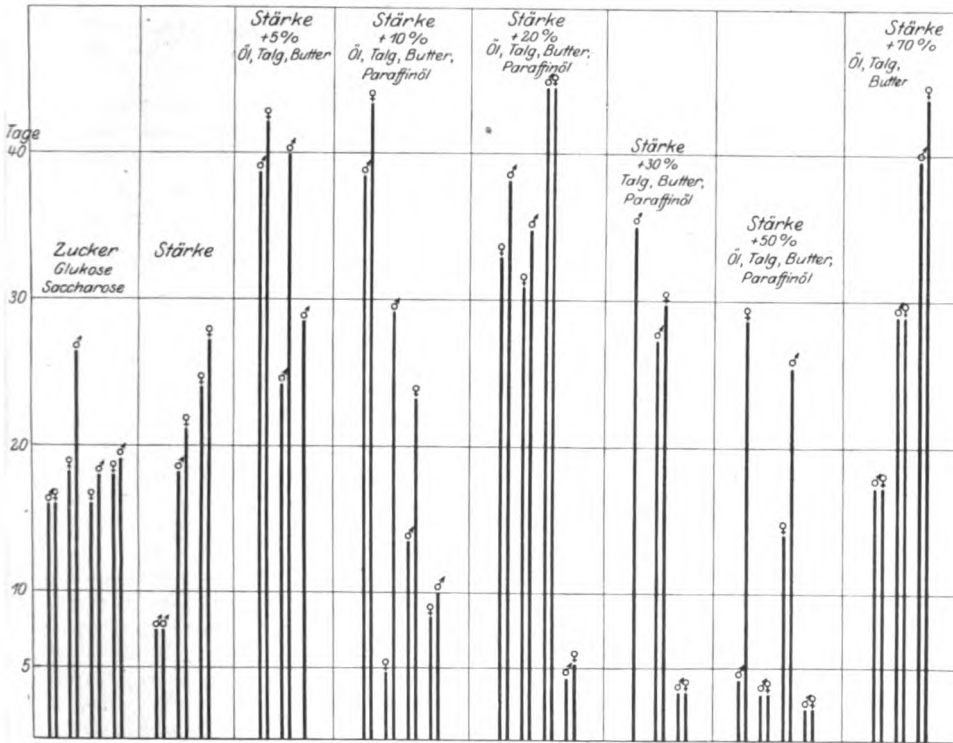


Diagramm I.

Watson¹⁾ beschreibt, daß mit Pferdefleisch allein ernährte Tiere in den ersten Versuchstagen massenhaft eingehen, was bei Rindfleischnahrung nicht zu beobachten war. Diese Verschiedenartigkeit der Wirkung ist vielleicht auf die allgemeine Beschaffenheit des Fleisches zurückzuführen, indem nämlich das vom Rind sehr fett, das vom Pferd stammende sehr mager war. Die Wirkung des Fettzusatzes bleibt sich also scheinbar auch bei Eiweißnahrung ähnlich. Wir haben schon früher zeigen können, daß, mit magerem Rindfleisch ernährt, junge Ratten ebenso kurz leben wie Watsons Pferdefleischtiere. Daß die Eiweißwirkung auch bei intravenöser Zufuhr durch das Vorhandensein von Fetten modifiziert wird, finden auch Schott²⁾ und Henriquez³⁾ auf Grund ihrer Beobachtungen, daß

¹⁾ Watson, Journ. of physiol. **34**, 111.

²⁾ Schott, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **112**, 403.

³⁾ Henriquez, Phys. Chem. **92**, 201.

Casein, mit Hühnereiweiß injiziert, giftig sind, Hühnereidotter dagegen nicht. Über diese Eigenschaft des Hühnereidotters schreibt Henriquez wörtlich: „Vielleicht spielt die eigentümliche Zustandsform, die Vermischung mit fettartigen Verbindungen, eine Rolle.“

Am wichtigsten sind aber diese Versuche im Vergleich mit den vielen Versuchen mit synthetischer Nahrung. Bei diesen wurden im allgemeinen so hohe Prozentsätze von Fett zugesetzt, daß die Art des Fettes (Fett oder Butter) bei der beobachteten Wirkung sicher schon mitgespielt hat. Andererseits hat man oft Vergleiche zwischen Versuchen angestellt, in denen die relativen Fettmengen der Futterportionen verschiedene waren, so daß dadurch allein die Unterschiede erklärt oder aber die Resultate gestört werden konnten.

Endlich sei noch darauf hingewiesen, daß die Lebensdauer der Tiere durch Zusatz von Eiweiß und Salzen zur Nahrung in vielen Versuchen nicht länger war, als die von unseren mit Stärke-Fett-Mischungen ernährten Tieren. So finden Funk und Macallum¹⁾ bei einer Futtermischung von

Casein	22 ^o _o
Stärke	42 ^o _o
Saccharose	21 ^o _o
Speck	12,4 ^o _o
Salze	2,8 ^o _o

unter 318 Tieren keines, das länger als 47 Tage lang gelebt hätte.

Osborne und Mendel²⁾ haben ganz ähnliche Resultate gefunden bei ihren Versuchen mit Edestin, Lactalbumin, Gliadin, Casein, Fleischrückstand. (Von letzteren haben drei Tiere, die allerdings schwerer waren als unsere Versuchstiere, länger gelebt, so daß man sogar geneigt wird, anzunehmen, daß wirklich reines Eiweiß und Salzzusatz die Lebensdauer der Tiere gegenüber einer Nahrung von Stärke-Fett-Mischungen nicht erhöht. Dasselbe Ergebnis sehen wir auch aus einem Versuch von Harden und Zilva³⁾. Diese Autoren haben besonders reines Casein verwendet, und bei einer Zusammensetzung der Nahrung aus Casein, Stärke, Butterfett, Öl, Röhmans Salzmischung und Zitronensaft lebten ihre Tiere sogar bedeutend kürzer als die längstlebenden von unseren Versuchstieren an Stärke- und Fettmischungen. Danach hat es den Anschein, daß man die Synthese der Nahrung, die von den englischen und amerikanischen Forschern mit so großem Erfolg ausgeführt wurde, durch die Untersuchung ergänzen muß, wie die Kohlenhydratnahrung durch andere Nahrungsfaktoren ergänzt wird. Wir können wohl keine additiven Wirkungen erwarten, wie dies schon die Wirkungsart des Fettes gezeigt hat.

Aus diesen Untersuchungen ergibt sich als Arbeitshypothese: Die Länge des totalen wie des partiellen Hungers wird durch jene Bestandteile der Nahrung bestimmt, welche der Organismus nicht stapelt. In dieser Beziehung wird die Untersuchung des sog. „anti-neuritischen oder wasserlöslichen Nährfaktors“ besonders interessant sein.

¹⁾ Funk und Macallum, Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 13. 1914.

²⁾ Osborne und Mendel, Journ. of biol. chem. **39**, 39. 1919.

³⁾ Harden und Zilva, Biochem. Journ. **12**, 411.

III. Über die aktive Wirkung der einzelnen Nahrungsmittel.

1. Die Rolle der Salze in der Ernährung.

Nachdem Liebig die Wichtigkeit der anorganischen Nahrungsmittel für die Entwicklung der Pflanzen erkannt hatte, hat er seine diesbezüglichen Erfahrungen für die Ernährung der Tiere verwertet. Die Entwicklung unserer Kenntnisse auf diesem Gebiete war eben aus dem Grunde eine sehr langsame, weil das Hauptinteresse der Veränderung der Nahrungsmittel im Organismus zugewendet war. Die Salze der Nahrungsmittel werden entweder unverändert im Organismus abgelagert, oder sie verlassen denselben unverändert. Dies hat dazu geführt, daß man die Salze sogar eine Zeitlang als überflüssigen Ballast in der Nahrung betrachtet hat, die höchstens für den noch in der Entwicklung befindlichen Organismus von Bedeutung sind. Die physikalisch-chemischen Untersuchungen haben zuerst das Interesse der Physiologen auf die Salze gelenkt. Heute wissen wir, daß sie, obwohl sie einen geringen Teil des Organismus ausmachen, trotzdem von großem Einfluß auf die Entwicklung desselben sind. Köppe (Die Bedeutung der Salze als Nahrungsmittel. Gießen 1896) war der erste, der darauf hingewiesen hat, was für eine wichtige aktive Rolle sie im Stoffwechsel der Lebewesen spielen (gegenüber der mehr passiven Rolle von Eiweiß, Fett und Kohlenhydraten). In diesem Zusammenhange betont er auch im allgemeinen, „daß Nahrung und Organismus wechselseitig aufeinander wirken, soll der Verdauungsvorgang sich abspielen“. Dies ist eigentlich einer der ersten bewußten Hinweise darauf, daß außer der schnellen Veränderung der Nahrungsmittel auch durch die Einwirkung der Nahrung der Organismus verändert wird. Selbstverständlich ist diese Veränderung viel langsamer als die Veränderung der Nahrungsmittel. Dieselbe Wirkung, die Köppe als Salzwirkung bezeichnet, haben andere Forscher auch bei organischen Substanzen beobachtet, und diese chemisch nicht näher bekannten Substanzen nennt Funk Vitamine, Hopkins und Hofmeister akzessorische Nährsubstanzen oder -faktoren. Charakteristisch ist wieder die aktive Wirkung der Nahrungsmittel. Die genauere Erkenntnis der Salzwirkung wurde nun eben für die Erkenntnis der akzessorischen Nährstoffe von größter Wichtigkeit. Die anorganischen Substanzen können im Organismus viel eher nachgewiesen und bestimmt werden als organische Substanzen. Daher wissen wir, in welchen Organen der Mangel an einzelnen anorganischen Salzen Veränderungen hervorruft. Insbesondere hat die Untersuchung von Chlor, Calcium, Phosphor und Eisen ergeben, daß die Ausfallserscheinungen eben dort (in demselben Organ) auffallende Funktionsstörungen verursachen, in dessen Aufbau das betreffende Element eine wichtige Rolle spielt (Hofmeister).

So verursacht Chlormangel die unvollständige Absonderung von Magensaft, Calcium und Phosphormangel Abnahme der Knochensubstanz. Eisenmangel Abnahme des Hämoglobingehaltes im Blute.

Auf Grund dieser Resultate weist Hofmeister darauf hin, daß, wo wir (z. B. bei Beriberi) typische Ausfallserscheinungen beobachten können, die chemische Zusammensetzung eben des betreffenden Organes sich verändert hat. Dieses Prinzip scheint eine sehr nützliche Arbeitshypothese zu sein, wenn auch die chemischen Untersuchungen auf dem Gebiete keine neuen Resultate gezeitigt haben. Die Hauptursache liegt aber hier in den Arbeitsbedingungen. Diese Versuche wurden an sehr kleinen Tieren ausgeführt, dabei stoßen die chemischen Untersuchungen auf sehr große Schwierigkeiten. Neue Resultate können wir noch von der Anwendung der Mikrochemie auf diesem Gebiete erwarten.

Für lange dauernde Versuche liegt die Schwierigkeit für diese Untersuchungen darin, daß wir das Verhalten von Eiweiß gegen die Salze noch zu wenig kennen. So hat man die natürlichen Nahrungsmittel bei der Reinherstellung der einzelnen Substrate irreversibel verändert. Verschiedene Forscher schlagen verschiedene Salzmischungen zur Ergänzung der aus gereinigtem Fett, Eiweiß und Kohlenhydraten hergestellten Nahrung vor. Dem in den Nahrungsmitteln vorkommenden Salzgehalt entsprechen diese Vorgänge nicht. Das sehen wir einerseits aus den Versuchen von Osborne und Mendel, die die enteiweißte Milch jedem künstlichen Salzgemisch vorziehen und aus den Versuchen von Urbeanu. Er schreibt den Kalisalzen der verschiedenen natürlichen Nahrungsmittel eine besondere Rolle für die Ernährung zu. Seine Versuche sind aber nur in der Weise durchgeführt, daß er die Kalisalze aus den Nahrungsmitteln entfernt hat, aber nicht, daß er sie den Nahrungsmitteln wieder zugesetzt hat. Wenn wir einer kalisalzarmen Nahrung, z. B. Mais, künstlich Kalisalze zusetzen (Kaliumchlorid), wird der biologische Wert der Nahrungsmittel nicht erhöht, sondern vermindert, indem die Tiere kürzer leben als bei reiner Maisnahrung. Schon aus dem Grunde scheint der umgekehrte Weg zweckmäßiger zu sein, bei dem wir nicht auf synthetischem Wege beweisen wollen, was eine genügende Nahrung für ein Tier darstellt, sondern umgekehrt, sozusagen mit einer biologischen Analyse anzugeben, was für eine Veränderung oder Ergänzung es benötigt.

Selbstverständlich muß man dabei höchst vorsichtig vorgehen, denn die Wirkung eines Nahrungsmittels kann auch durch einfache Verdünnung weniger auffallend gemacht werden und dadurch der Beobachtung entgehen. Als Beispiele für dieses Verhalten seien Hefe und Bohnen erwähnt. Deswegen scheint es in vielen Fällen zunächst zweckmäßiger, eine weniger vollkommene Nahrung aber in möglichst konzentrierter Form dem Tiere zu reichen, besonders dann, wenn es

sich in Versuchen um die Verfütterung künstlich hergestellter Nahrungsmittel handelt. Der Mangel an Eiweiß, gar nicht gesprochen von den „Vitaminen“, zeigt sich bei der Ratte erst nach ziemlich langer Versuchsdauer, die Entscheidung aber darüber, ob ein Nahrungsmittel besser oder schlechter ist — bei ähnlicher chemischer Zusammensetzung — kann man hingegen oft innerhalb einiger Tage schon fällen.

Außerdem werden die empirisch gefundenen Methoden der Zubereitung der natürlichen Nahrungsmittel die biologischen Wirkungen der Nahrungsmittel beeinflussen. Diese Methode ergänzt selbstverständlich nur die vorher erwähnte synthetische Methode, zugleich ist sie aber auch berufen, für die so komplizierten technischen Prozesse der Herstellung der menschlichen Nahrungsmittel die Grundlage zu schaffen und das auf diesem Gebiete herrschende Herumprobieren, welches leider für ganze Völker von den schädlichsten Folgen begleitet war, zu beenden.

Bei der Untersuchung der Salzwirkung ist es von besonderer Wichtigkeit, daß die Salze — wenn sie auch gar nicht aufgesaugt werden — im Darm eine bedeutungsvolle Wirkung ausüben können (Hart). Selbstverständlich können auch andere Substanzen auf ähnliche Weise wirken.

2. Die Rolle der chemischen Zusammensetzung der Eiweißkörper.

Seit den Untersuchungen von Voit wissen wir, daß nicht alle Eiweißkörper gleich geeignet sind für die Ernährung des Menschen resp. der Tiere. So hat schon Voit erkannt, daß es nicht möglich ist, durch die Gelatine den Stickstoffbedarf des Menschen sowohl als auch des Tieres allein zu decken.

Die Untersuchungen von Voit, Thomas, Robert Boruttau usw. haben auf die spezifische biologische Wirkung der Eiweißkörper hingewiesen, im allgemeinen beschäftigte man sich jedoch immer mit der Frage des Eiweißverbrauches schlechtweg.

Über die qualitative Rolle der Eiweißkörper in der Ernährung haben ebenso wie in so vielen anderen physiologischen Fragen die Untersuchungen von Emil Fischer Klarheit gebracht. Die neue Fragestellung war: Welche Aminosäuren müssen in der menschlichen Nahrung vorhanden sein? Henriquez und Hansen (Zeitschr. f. physiol. Chem. 63, 417) haben gezeigt, daß erwachsene Ratten ohne Lysin nicht leben können. Als lysinfreies Eiweiß wurde das Weizengliadin benutzt. Ebenso haben Willcock und Hopkins (Journ. of physiol. 35, 88. 1906) gezeigt, daß ohne Tryptophan die weißen Mäuse nicht leben können. Nach diesen Versuchen haben sich besonders Abderhalden und Osborne und Mendel eingehend mit den Fragen beschäftigt. Auf Grund der Versuche der amerikanischen Autoren sehen wir, daß verschiedene Eiweißkörper, insbesondere die pflanzlichen auf die Entwicklung junger Ratten eine sehr verschiedene Wirkung ausüben und daß tatsächlich sehr oft der Mangel einzelner Aminosäuren geeignet ist,

diese Minderwertigkeit zu erklären. In manchen Fällen wird die Minderwertigkeit nicht durch einen absoluten, sondern durch einen relativen Mangel verursacht. Eine besondere Schwierigkeit dieser Untersuchungen ist, daß durch Zusatz der fehlenden Aminosäure (in chemisch reinem Zustand) zu der Nahrung die Tiere oft geschädigt werden können. Derartige Beobachtungen sehen wir von Osborne und Mendel¹⁾ an der Ratte gemacht, von Mitchell²⁾ an der Maus. Aus alledem kann man aber wieder erschen, daß die Probleme der Ernährung nicht vom Standpunkt der Synthese gelöst werden können³⁾.

Die erste Frage dieser Untersuchungen ist, wieweit die Eiweißkörper schon allein durch die Reinherstellung, wie wir das bei den Salzen gesehen haben, verändert werden. Besonders Hofmeister hat darauf hingewiesen, daß in der Ernährung die Artspezifität des zu ernährenden Tieres große Differenzen in der Ernährung verursacht. Dieselben Differenzen sind eben von der Artspezifität der Nahrungsmittel zu erwarten: deswegen habe ich die Untersuchungen daraufhin ausgeführt, ob die physikalischen Veränderungen eiweißreicher Nahrungsmittel den biologischen Wert der Nahrung in großem Maße beeinflussen können. Es kann schon hier bemerkt werden, daß diese Frage mit „ja“ beantwortet werden wird.

3. Die Lehre der akzessorischen Nährstoffe.

Der dritte und zugleich aussichtsreichste Weg zur Erkenntnis der aktiven Wirkung der Nahrungsmittel ist die Klärung der sog. akzessorischen Nährfaktoren oder Nährstoffe. Zum Teil waren es die experimentell pathologischen Untersuchungen, zum Teil Versuche über die Wirkung der Ernährung auf das wachsende und langdauernde Fütterung auf das erwachsene Tier. Diese haben zu dem Ergebnis geführt, daß die reinen Nahrungsstoffe (Wasser, Salze, Fett, Kohlenhydrate, Eiweiß) als Nahrung Krankheit, Hemmung der normalen Entwicklung, am Ende den Tod verursachen.

Die diesbezüglichen Tatsachen stehen außer Zweifel, nur scheint entweder ihre Deutung nicht erschöpfend begründet zu sein oder viel Gewaltames zu enthalten. Es ist hier nicht der Ort, auf diese Fragen näher einzugehen, höchstens auf einige Punkte soll hingewiesen werden, um für die folgenden Versuche sozusagen den Weg freizumachen.

Die Lehre der akzessorischen Nährfaktoren sagt heute, daß außer qualitativ gutem Eiweiß, Fetten, Kohlenhydraten auch noch Salze und 3 Faktoren notwendig sind:

¹⁾ Osborne und Mendel, **25**, 1. 1916.

²⁾ Mitchell, H. H., Biol.Chem. **26**, 231. 1916.

³⁾ Nichtsdestoweniger müssen wir daran festhalten, daß für Nahrungsgemische ein zweiter Eiweißkörper durch ihren Gehalt an bestimmten Aminosäuren ergänzend einwirken kann.

1. Der wasserlösliche Nährfaktor „Antiberiberivitamin“,
2. der fettlösliche Nährfaktor vielleicht „antirachitisches Vitamin“,
3. das „antiskorbutische Vitamin“.

Die ersten beiden wurden erkannt durch die besondere Wachstumswirkung der Milch. Wenn wir nun in der Milch einen wasserlöslichen, einen fettlöslichen und einen Eiweißanteil höchst wichtig finden, ist dies nur dafür ein Beweis, daß in allen durch Ausziehen erhaltenen Fraktionen der Milch lebenswichtige Substanzen enthalten sind. Daß Substanzen von ähnlicher Löslichkeit auch im allgemeinen ähnlichere Eigenschaften haben als Substanzen von wesentlich anderen Lösungsverhältnissen, ist ein schon von Mendelejeff in noch allgemeinerer Form erkanntes Gesetz. Besonders interessant ist diesbezüglich die Beobachtung, daß der wasserlösliche Nährfaktor auf das Nervensystem einwirkt, während der fettlösliche dies nicht tut; entgegengesetzt also der Wirkung der Narkotica im Sinne der Meyer - Overton'schen Lehre.

Weiters kann man zwischen der Wirkung des fettlöslichen Nährfaktors und des antirachitischen einen Parallelismus finden, aber keinesfalls Identität annehmen. Im nächsten Teil werden wir schon die Divergenz zwischen Hitzeinaktivierung und antiskorbutischer Wirksamkeit sehen.

Wenn wir ganz junge Ratten mit poliertem Reis ernährt haben, dann erkrankten sie an Xerophthalmie. Die Todesursache war meistens sehr schwere Bronchopneumonie. Ältere Tiere scheinen dagegen mehr an einer beriberiähnlichen Erkrankung zu leiden und sterben. Nun wissen wir, daß geschälter Reis bei Menschen und Tauben Beriberi verursacht. Man müßte also annehmen, daß für das eine Tier der eine, für eine andere Art der andere akzessorische Nährfaktor fehlt.

Dieselben Beobachtungen haben auch Hess und Takahashi¹⁾ gemacht. Wenn sie Ratten, die von geschältem Reis an Xerophthalmie erkrankten, mit Fleisch von normalen Tauben fütterten, genasen die Tiere, dagegen nicht, wenn sie den kranken Tieren Fleisch von beriberi-kranken oder hungernden Tauben reichten. Nach diesem Versuch fehlt also in dem Fleisch der infolge der Insuffizienz des wasserlöslichen Nährfaktors erkrankten Tiere das fettlösliche Vitamin. Die Versuche von Dutcher²⁾ weisen daraufhin, daß auch im Hunger der wasserlösliche Nährfaktor aus den Geweben schwindet, so daß die Befunde von Hess und Takahashi noch eindeutiger sind, als die Autoren selbst annehmen. Unsere eigenen im folgenden angeführten Versuche legen übrigens auch die Annahme nahe, daß die Dauer des Hungerns zunächst durch jene Nährfaktoren bestimmt wird, die im Organismus nicht vorhanden sind. Daß der wasserlösliche Nährfaktor im Organis-

¹⁾ Hess und Takahashi, diese Zeitschr. **122**, 193.

²⁾ Dutcher, Biol. Chem. **36**, 63. 1918.

mus nicht gestapelt wird, ist bekannt. Wir müssen demnach wenigstens einen engen Zusammenhang oder ein Zusammenwirken beider Nährfaktoren annehmen. Daß je eine Gruppe der „akzessorischen Nährstoffe“ auch der Wirkung nach aus verschiedenen Substanzen zusammengesetzt ist, kann man am besten aus einem Versuch von Funk¹⁾ erschließen. Funk konnte nämlich aus der Reiskleie ein „Vitamin“ herstellen, welches die akuten Symptome der Beriberi der Tauben heilt, aber nicht imstande ist, die weiterschreitende Abmagerung und den Eintritt des Todes aufzuhalten. Der Reiskleieextrakt enthält also zumindest mehrere „Vitamine“. Ähnliche Erscheinungen wurden auch von anderen Autoren beobachtet und sind wohl eine deutliche Mahnung, daß es zweckmäßiger ist, bei der exakt biologischen Beobachtung zu bleiben und zunächst nicht alle Wirkungen auf chemische Ursachen zurückzuführen, da es sich ja möglicherweise um ganz andere Phänomene handeln kann. In diesem Zusammenhang soll nur auf die Beobachtungen von Stepp²⁾ hingewiesen werden, der mit dem aus Milchpulver und Milchprotamol extrahierten Lipoid, per os gegeben, Mäuse am Leben erhalten kann, hingegen nicht, wenn er es subcutan injiziert. Ebenso konnten wir nachweisen, daß Butter in Injektionen zugeführt die Wirkungen des fettlöslichen Nährfaktors nicht aufweist, per os gegeben aber in dem bekannt großen Maße³⁾.

Endlich müssen wir auch zwei methodische Bedenken erheben. Daß erstens die chemische „Reinigung“ der Nahrung ihren biologischen Wert stark verändert und daß zweitens die Versuche größtenteils an so jungen Tieren ausgeführt wurden, daß die Gewöhnung an das verabreichte Nahrungsmittel das Resultat beeinflussen muß. Durch diese Einwände sollen die großen Verdienste der amerikanischen und englischen Forscher nicht geschmälert werden, sondern nur darauf hingewiesen, daß es wirklich schade wäre, die biologische Ernährungslehre wieder einem chemischen Zwange zu unterwerfen, bevor ein zwingender theoretischer Grund dazu vorhanden ist. Das Primäre ist auf diesem Gebiete die biologische Prüfung. Es sind zunächst noch sehr wichtige theoretische und praktische biologische Fragen zu lösen bevor wir auf die chemische Klärung der Erscheinungen eingehen können. Erst hat man die Chemie mit ihren eigenen Methoden aufgebaut und ist von da ausgehend zur Molekularphysik gekommen. Wir müssen und werden der Chemie in der Biologie immer sehr viel verdanken, aber die Biologie ist doch etwas mehr als angewandte Chemie.

¹⁾ Funk, Journ. of physiol. **43**, 395. 1911/12.

²⁾ Stepp, Zeitschr. f. Biol. **66**, 365.

³⁾ Die diesbezüglichen Versuche werden in der zweiten Mitteilung ausführlich beschrieben.

Über die Rolle der Artspezifität der Eiweißkörper in der Ernährung ¹⁾).

Leguminosen.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Seitdem auf Grund der Untersuchungen von Liebig in der Ernährung der Tiere den Eiweißkörpern als Gewebebilddnern eine größere Bedeutung zugeschrieben wurde als den „respiratorischen Nährstoffen“, den Fetten und Kohlenhydraten, wurde den eiweißhaltigen Leguminosen eine bevorzugte Stellung als Nahrungsmittel eingeräumt. Eine der wichtigsten praktischen Folgerungen der Ernährungslehre war eben, die Bohnen als höchst vorteilhafte Nahrung zu empfehlen, welche Ansicht aber durch im Krieg gemachte Erfahrungen gründlich widerlegt wurde, obzwar einzelne in sehr großem Maße sich an Bohnen gewöhnen können. Verschiedene Staaten haben versucht, der Nahrungsmittelnöte der Bevölkerung durch Zuweisung von Bohnen abzuhelpfen, doch konnte diese Maßnahme den Zweck nicht erfüllen, weil die Aversion, die von seiten der Bevölkerung gegen die Bohnen bald auftauchte, alle Propagandabemühungen vereitelte. Aufgabe der wissenschaftlichen Forschung ist es nun, diesen Widerspruch zu klären. Das Mißtrauen gegen die Bohnen als Nahrungsmittel, das unter den Alten schon Pythagoras verbreitet, scheint uns nach dem Vorhergehenden als Tatsache recht interessant, wenn auch ihre seinerzeitige Begründung — sie ähneln in ihrer Form den Hoden oder dem Eingang in den Hades — nicht ernst zu nehmen ist. Auch der Arzt Strupp wertet die Bohnen niedriger als z. B. die Erbsen, denen er zuschreibt: *Melius quam fabae*

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig ausgeführt.

nutriens¹⁾. Im Mittelalter finden wir vielfach den geringeren Wert der Bohnen als Nahrungsmittel betont; nur ist es natürlich nicht festzustellen, inwieweit dieses Urteil durch eigene Erfahrungen begründet oder bloß von der pythagoräischen Schule übernommen wurde¹⁾.

Durch Einführung biologischer Forschungsmethoden in die Ernährungslhre konnten Osborne und Mendel²⁾ zeigen, daß der geringere Wert der Bohnen als Nahrungsmittel auf die biologische Minderwertigkeit des Bohneneiweißes zurückzuführen ist. Im Prinzip ist McCollum derselben Meinung, nur kann man seine Befunde nicht unbedingt annehmen, da durch seine „Ergänzungsmethode“ die Menge der Bohnen in der Nahrung so zurücktritt, daß ihre Wirkung nicht klar ersichtlich ist. Endlich möchte ich die Untersuchungen von Johns und Finks³⁾ anführen, denen zufolge auch die schlechten biologischen Wirkungen der Bohnen durch Kochen des Plaseolins vermindert werden⁴⁾⁵⁾ Ich habe die Wirkungen der einseitigen Leguminosenernährung untereinander verglichen und auch die Weise, in welcher diese Wirkungen durch physikalische Einflüsse verändert werden können. Die Versuche wurden an weißen, im Wachstum befindlichen Ratten ausgeführt.

Tabelle XV.

Lebensdauer der mit Bohnen-, Erbsen-, Linsen-Mehl gefütterten Tiere.

Geschlecht	Bohnen	Erbsen	Linsen	Erbsen	Linsen	Linsen
	Tage	Tage	Tage	Bohnen	Bohnen	Erbsen
♂	5	57	278	11,4	55,6	4,9
♀	4	114	155	28,5	38,8	1,37

¹⁾ Dieses Zitat stammt aus dem Buche „Neue Speiskammer und Keller in Hungersnöten, Mißwachs und Kriegsläufen“ (1582), das nicht nur vom praktischen Standpunkte aus Interesse verdient (es bringt viele der während und nach dem Kriege als „neu“ aufgetauchten Ersatzmittel, u. a. verschiedene Brotstreckungsarten), sondern vor allem deshalb, weil es die Wirkung der Nahrungsmittel auf den Menschen behandelt. Obwohl begreiflicherweise viele der Tatsachen — da das Experiment als Prüfstein mangelt — nicht haltbar sind, muß dennoch der scharfe Blick des Autors für das Tatsächliche anerkannt werden, der ihn oft zu richtigen Feststellungen führt, die aber ihrerseits gemeinsam mit dem Vielen bloß Merkwürdigen das Schicksal des Vergessenwerdens teilen mußten.

²⁾ Osborne und Mendel, H. Zeitschr. f. physiol. Chem. **80**. 307.

³⁾ Johns und Finks, Journ. of biol. Chem. **39**, 375. (J. und F. zitieren in ihrer Arbeit auch Osborne und Mendel ((fundamen. Mitt.) für dasselbe Resultat.

⁴⁾ Eine sehr wertvolle zusammenfassende Würdigung der Leguminosenernährung findet sich bei Noorden - Salomon (Handbuch der Ernährungslehre).

⁵⁾ Die Beeinflussung der Ausnützbarkeit durch die küchenmäßige Zubereitung ist insbesondere aus den Versuchen von Praussnitz (Zeitschr. f. Biol. **26**, 270. 1890) ersichtlich. (Siehe auch Strümpell, Dtsch. Arch. f. klin. Med. **17**, 108. 1875.)

wie sie schon insbesondere amerikanische Forscher für diese Zwecke verwendet haben. Zu jedem Versuch wurde je ein Männchen und Weibchen benützt, die Lebensdauer der mit Leguminosenmehlen gefütterten Tiere ist aus Tabelle XV ersichtlich.

Aus Tabelle XV ist das verschiedene Verhalten der mit Bohnen, Erbsen, Linsen ernährten Tiere ersichtlich. Die Tiere bekamen Leguminosen in Form von Mehl, um die verschiedene mechanische Wirkung auszuschließen, die hier besonders infolge der wesentlichen Größenunterschiede der Samen in Betracht kommen würde. Auf die mechanischen (eventuell biologischen) Veränderungen andererseits, die der Mahlprozeß nach sich zieht, werden wir an anderer Stelle noch näher eingehen. Die Lebensdauer der Tiere ist am kürzesten bei Bohnen, 4—5 Tage, länger bei Erbsen, 2—4 Monate, und am längsten bei Linsen, 5—9 Monate. Die auftretenden Differenzen sind so groß, daß sie als genügend deutlicher Beweis für den Zusammenhang von Futter und Lebensdauer gelten können, und rechtfertigen somit die geringe Anzahl der in den Versuch eingestellten Tiere¹⁾. Ähnliche Erscheinungen hat Oseki²⁾ bei Mäusen beobachtet. Die Lebensdauer bei Bohnenmehl plus Röhmans Salz Mischung als Nahrung beträgt bei 2 Tieren 19 und 21 Tage, bei Erbsenmehl dagegen unter gleichen Bedingungen 32 und 33 Tage. Viel geringere Unterschiede hat Fürst³⁾ gefunden, der zu einigen Versuchen Meerschweinchen verwendete, die er mit Erbsen und Linsen ernährte. Die mittlere Lebensdauer von 5 mit gelben Erbsen gefütterten Meerschweinchen betrug 45 Tage, von 4 mit Linsen ernährten 53 Tage. Von den auf Erbsenkost gesetzten Tieren erkrankten alle an Skorbut, von den anderen nur eins. Da die von Oseki an weißen Mäusen gemachte Beobachtung der Lebensdauer mit unseren bei weißen Ratten gefundenen Werten stark differieren, habe ich die Versuche auch auf weiße Mäuse ausgedehnt.

¹⁾ Mehr Tiere als je 1 Männchen und 1 Weibchen bei einseitiger Ernährung zusammen in einem Käfig unterzubringen, hat sich als unzweckmäßig erwiesen, da die stärkeren Individuen die schwächeren nicht nur bei der Futteraufnahme stören, sondern sie auch töten, was aber bei der oben erwähnten Art der Tierhaltung nicht beobachtet wurde. Höchstens wird das eine tote von den überlebenden angefressen. Es werden auch die Versuchsfehler weit besser ausgeschaltet, wenn die Versuche öfter wiederholt werden, wie es unsere Gewohnheit war und ist. Hopkins hält in seinen Versuchen je 2 Männchen und 2 Weibchen in einem Käfig. Uns schien doch die eingangs erwähnte Art des Haltens zweckmäßiger, denn besonders die Männchen konnten sich miteinander nicht vertragen, das größere störte das kleinere bei der Futteraufnahme. Die wichtigsten von unseren hier mitgeteilten Versuchen wurden mit verschiedenen Kombinationen von Tieren wiederholt, worauf aber erst an anderer Stelle näher eingegangen werden kann.

²⁾ Oseki, diese Zeitschr. 65, 16—25.

³⁾ Fürst, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 72, 147.

Rolle spielt, Auslösungsvorgänge aber oder Zersetzungen und Oxydationen, wie sie den Röstprozeß begleiten, ausgeschlossen sind. Für die Wirkung des Sauerstoffes wird bei unserem Verfahren durch die schnelle Verflüchtigung des Wassers gesorgt. (Wenn dieses Verfahren auch noch einer weiteren Ausgestaltung bedarf, können wir trotzdem die Resultate auf Grund ihrer Eindeutigkeit in Betracht ziehen.) Die so vorbehandelten Leguminosen wurden im Vakuum bei 100° getrocknet, was wegen des geringen Wassergehaltes sehr schnell geschehen konnte, und gemahlen. Die Ergebnisse der mit dieser Nahrung ausgeführten Versuche sind aus Tabelle XVII ersichtlich.

Tabelle XVII.

Lebensdauer der mit hitzeinaktivierten Bohnen, Erbsen, Linsen gefütterten Tiere.

Geschlecht	Bohnen	Erbsen	Linsen	Erbsen : Bohnen	Linsen : Bohnen	Linsen : Erbsen
♂	10	115	131	11,5	13,1	1,15
♀	64	183	222	2,9	3,5	1,2

Die mit hitzeinaktivierten Hülsenfrüchten gefütterten Tiere leben, wenn es sich um Bohnen und Erbsen handelt, beträchtlich länger als wenn die Nahrung in rohem Zustand gegeben wurde. Bei Linsen folgen nur die Weibchen diesem Verhalten, das Männchen erreicht nicht die Lebensdauer des mit rohen Linsen gefütterten Tieres. Aus Tabelle XVII ersehen wir, daß von den mit hitzeinaktivierten Leguminosen genährten Tieren die Weibchen viel länger leben als die Männchen, während dies für die rohen Früchte nur bei Erbsen zutrifft. Bei Fütterung mit rohen Bohnen ist die Lebensdauer überhaupt zu kurz, als daß man wesentliche Differenzen erwarten könnte.

Auch Mc Collum¹⁾ — wir haben an Hand seiner Kurven diese Daten berechnet — kommt zu demselben Resultat, wenn er die Tiere mit Bohnenmehl und Röhmans Salzmischung füttert. Ein einziges Weibchen bildet eine Ausnahme, es kann aber den Mittelwert nicht so weit erniedrigen, daß er nicht noch immer über den der Männchen hervorragte. Auf diese Weise scheinen ein anderes Verhalten nur die Linsen zu veranlassen, bei denen wir auch ein Verschieben der Hitzewirkung beobachten konnten.

Tabelle XVIII.

Anfangsgewichte und Lebensdauer der mit Bohnen u. Röhmanschem Salz gefütterten Tiere.

♀		♂	
Ge- wicht g	Lebens- dauer in Tagen	Ge- wicht g	Lebens- dauer in Tagen
68	270	70	150
58	150	66	180
54	18	56	18
46	21	49	15
95	138		

Mittlere

60,4 119 | 60 90

¹⁾ Mc Collum, The Journ. of biol. chem.

Aus Tabelle XVIII ist ersichtlich, daß jüngere Ratten viel kürzer von Bohnen (+ Röhmanssalzmischung) leben als ältere. Dieselbe Beobachtung konnten wir an Versuchen machen, bei denen ausschließlich Bohnen verfüttert wurden. Ähnliches beschreibt Hart¹⁾ für Hühnchen, die allein mit Weizen ernährt waren. Unsere Versuche erwecken den Anschein, daß Tiere von einem Gewicht zwischen 70 und 100 g gegen die Nahrung besonders unempfindlich sind, im Vergleich zu schwereren sowohl als auch zu leichteren. Nach McCollum führt eine 5 proz. Zugabe von Röhmanssalzmischung zu einer bedeutenden Verlängerung der Lebensdauer, im Vergleich zu der von uns beobachteten. Ähnliches zeigt der Vergleich von Osekis Lebenswerten gegen unsere mit Bohnen ernährten Mäuse. Tatsächlich konnten wir eine Verlängerung des Lebens bei Zugabe von Röhmanssalzmischung nachweisen, wenn auch nicht um einen solchen Betrag, wie McCollum angibt. Jedenfalls läßt sich diese Wirkung nur darauf zurückführen, daß die Salze im Darm die Bohnenwirkung abschwächen, welche Verhältnisse noch näher untersucht werden sollen.

Je stärker die Eiweißwirkung der Leguminosen ist (d. h. je kürzer die Lebensdauer der einseitig gefütterten Tiere), desto deutlicher macht sich der Einfluß der Hitzeinaktivierung bemerkbar, der im allgemeinen auch die Weibchen mehr betrifft als die Männchen, ausgenommen im Erbsenversuch. Der besprochene Zusammenhang zwischen Lebensdauer und Hitzeinaktivierung geht am klarsten aus den für Männchen und Weibchen berechneten Mittelwerten der Lebensdauer hervor. Dadurch erhalte man auch insofern eine Erklärung für das abweichende Verhalten der „Linsen-Männchen“, als durch das Ausschalten oder zumindest Herabsetzen der Eiweißwirkung andere Umstände sich geltend machen könnten, die bei den rohen Leguminosen verdeckt sind. Die endgültige Klärung dieser Fragen ist von weiteren Versuchen zu erwarten.

Tabelle XIX.

Lebensdauer-Verhältniszahlen der mit Bohnen, Erbsen, Linsen einseitig ernährten Tiere.

Zubereitung des Zuckers	Ge- schlecht	Bohnen	Erbsen	Linsen
roh . . .	♀ : ♂	0,8	2,0	0,56
inaktiv . .	♀ : ♂	6,4	1,6	1,7
roh: in- aktiv {	♂	2,0	2,0	0,5
	♀	13,0	1,6	1,4
	♂ + ♀	7,4	1,7	0,8

¹⁾ Hart, The Journ. of biol. chem. **29**, 289.

Dieser Versuch zeigt in seinen Grundzügen, wie bedeutend durch ein sehr einfaches in der Küche alltägliches Verfahren der biologische Wert der Nahrungsmittel verändert werden kann. Aus der Vitaminlehre geht wohl hervor, daß das Erhitzen die biologische Wertigkeit vieler Lebensmittel stark herabsetzt; daß durch denselben Vorgang aber auch die entgegengesetzte Wirkung, eine Verbesserung, herbeigeführt werden kann, konnte man aus den in jener Lehre beschriebenen Erscheinungen nicht entnehmen.

Osborne und Mendel¹⁾ haben ähnliche Veränderungen beschrieben, die sie infolge des Erhitzens von Baumwollsaamen beobachtet und als Entgiftung aufgefaßt haben (auch bei der Sojabohne). Es ist zweifellos, daß diese Erhitzungsprozesse viel Ähnlichkeit miteinander haben. Jedoch verhält sich, unseren Versuchen zufolge, die Sojabohne wesentlich anders als die anderen Leguminosen. Außer der Spezifität der Eiweißwirkung müssen ihr auch noch schädliche Wirkungen zugesprochen werden, eine Annahme, die eine willkommene Bestätigung aus der Praxis darin findet, daß der Mensch die Sojabohne, in derselben Weise zubereitet wie die anderen Hülsenfrüchte, nicht auf die Dauer essen will. Wir konnten die schädliche Wirkung der Soja auch direkt nachweisen. Das war der Grund, in unseren Versuchen die Sojabohne nicht mit den anderen Leguminosen zu vergleichen.

Viel größere Ähnlichkeit mit den Leguminosen scheint das Eiereiweiß zu besitzen. Schon Knieriem²⁾ hat beobachtet, daß Mäuse, mit Eiereiweiß allein ernährt, nicht länger leben als wenn sie hungern würden. Eiereiweiß verursacht bei den verschiedensten Tieren Diarrhöen. Besonders Batemann³⁾ hat eingehend die Wirkung des Eiereiweißes untersucht und dabei ganz analoge Erscheinungen beobachtet, wie wir bei Bohnen. Es genügt schon einfaches „Hitzeinaktivieren“, um die Diarrhöen erzeugende Wirkung des Eiereiweißes aufzuheben, so daß wir geneigt sind, auch die Wirkungen des Eiereiweißes auf seine Artspezifität, auf die der Organismus sich nicht einstellen kann, zurückzuführen.

Es war auffallend genug, daß in jenem unserer Versuche, in dem die Tiere mit ganzen Eiern gefüttert wurden, sie das Eiweiß fast quantitativ zurückgelassen und nur das Eigelb verzehrt haben, also ein analoges Verhalten zeigten wie angesichts von Linsen, Erbsen und Bohnen. Das schlechte Eiweiß meiden die Tiere. In diesem Zusammenhange sei wieder auf die Versuche von Schott und Henriquez (l. c.) hingewiesen, die auch bei intravenöser Zufuhr eine schädigende Wirkung des Eiereiweißes gegenüber dem Eiweiß des Eigelbes konstatieren.

¹⁾ Osborne und Mendel, The Journ. of biol. chem. **29**, 289.

²⁾ v. Knieriem, Zeitschr. f. Biol. **21** (3), 67.

³⁾ Batemann, Biol. Chem. **26**, 263.

Die beschriebenen Erscheinungen sind jedenfalls um so interessanter, als sie eine wissenschaftliche Grundlage außer der rein physikalischen für die altgeübten Kochprozesse geben.

Auffallend ist es, daß Fürst bei den mit Erbsen ernährten Meerschweinchen Skorbut beobachtet hat. Der antiskorbutische Nährfaktor ist im höchsten Maße thermolabil, nichtdestoweniger beobachten wir eine bedeutende Erhöhung des biologischen Wertes der Erbsen durch Erhitzen. Diese Tatsache, mit der von Fürst angegebenen verglichen, ist mit der Lehre von den akzessorischen Nährstoffen nicht in Einklang

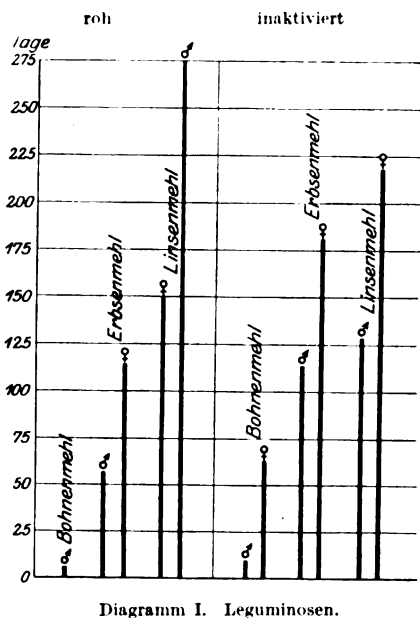


Diagramm I. Leguminosen.

zu bringen; oder es muß, solange als wir nicht die Versuche an Meerschweinchen wiederholt haben, die Einschränkung gemacht werden, daß das Verhalten verschiedener Tierarten direkt entgegengesetzt ist. Jedenfalls (das wissen wir auch aus anderen Versuchen) bedingt dies nicht unwesentliche Einschränkungen hinsichtlich der jetzigen Vitaminlehre. Aber schon die Mäuseversuche weisen vorbereitend auf diese unvermeidliche Einschränkung hin¹⁾.

Dieser Widerspruch wird um so auffallender, wenn man bedenkt, daß heute ein — wenn auch ungeklärter — Zusammenhang zwischen Skorbut und Spezifität des Nahrungseiweißes an-

genommen wird. Nach den Untersuchungen von Pitz²⁾ enthält das Serum skorbutkranker Meerschweinchen Präcipitine gegen Hafereiweiß, wenn die Tiere mit Hafer gefüttert wurden. Normalen Tieren kommen solche Präcipitine nicht zu. Noch auffallender ist die Parallelität zwischen Anaphylaxie und Skorbutempfindlichkeit, wenn auch unsere diesbezüglichen vergleichend-physiologischen Kenntnisse sehr mangelhaft sind. Das typische Anaphylaxietier ist das für Skorbut so empfängliche Meerschweinchen, nach Holst und Fröhlich neigen auch die leicht zu anaphylaktisierenden Hunde zu dieser Krankheit. Als Gegenstücke seien Ratte und Maus angeführt, bei denen Anaphylaxie nicht hervorgerufen und Skorbut nicht beobachtet werden konnte. Für den Men-

¹⁾ Fürst, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **72**, 121.

²⁾ Pitz, Biol. Chem. **37**, 439. 1918.

Tabelle XX.

Gewichtsveränderungen.
Ratten gefüttert mit rohem Erbsen-, Linsen-, Bohnen-Mehl.
Gewichtsveränderungen der mit inaktiviertem Erbsen-,
Bohnen-, Linsen-Mehl gefütterten Ratten.

Datum	Gewichte		Datum	Gewichte		Datum	Gewichte		Datum	Gewichte		Datum	Gewichte		Datum	Gewichte	
	♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀
28. VI.	96		28. VI.	78	69	28. VI.	74	90	28. VI.	52	53	28. VI.	49	69	Linsensmehl inaktiv		
29. VI.	94		29. VI.	82	70	29. VI.	70	92	29. VI.	58	58	29. VI.	53	74			
1. VII.	77		1. VII.	70	67	1. VII.	72	92	1. VII.	57	56	1. VII.	49	78			
8. VII.	71+		5. VII.	69	67	5. VII.	71	92	5. VII.	59	61	5. VII.	50	79			
			11. VII.	65	80	11. VII.	49+		11. VII.	59	61	11. VII.	51	78			
			18. VII.	67	84	18. VII.		94	18. VII.	60	62	18. VII.	57	82			
			25. VII.	72	89	25. VII.		100	25. VII.	67	71	25. VII.	60	88			
			31. VII.	85	95	31. VII.		108	31. VII.	78	75	31. VII.	64	93			
			7. VIII.	80	98	7. VIII.		97	7. VIII.	79	79	7. VIII.	62	93			
			15. VIII.	77	97	15. VIII.		96	15. VIII.	76	74	15. VIII.	64	94			
			23. VIII.	82+		23. VIII.		86	23. VIII.	77	72	23. VIII.	66	97			
			30. VIII.			30. VIII.		83	30. VIII.	70	86	30. VIII.	69	100			
			7. IX.			7. IX.		68	7. IX.	64	84	7. IX.	66	100			
			14. IX.			14. IX.		62+	14. IX.	58	83	14. IX.	59	96			
			23. IX.			23. IX.			23. IX.	63	94	23. IX.	57	100			
			1. X.			1. X.			1. X.	68	101	1. X.	58	106			
			13. X.			13. X.			13. X.	63	94	13. X.	66	110			
			19. X.			19. X.			21. X.	54+		25. X.	94+	119			
									25. X.		106	25. X.		123			
									9. XI.		104	9. XI.		142			
									9. XII.		112	9. XII.		115			
									9. XII.		74+	9. XII.		92			
									29. XII.			29. XII.		79			

schen und auch das Schwein gilt das von Hund und Meerschweinchen Gesagte. Wenn man auch diese Beobachtungen nicht voreilig in gesetzmäßigen Zusammenhang bringen darf — solange die Grundlagen beider Erscheinungen so wenig freigelegt sind — weisen sie doch eindringlich daraufhin, daß man einen Fortschritt der Ernährungslehre vor allem nicht von einem Schematisieren der Erscheinungen zu erwarten hat.

Die bisher erhobenen Beobachtungen erhalten weitere Stützen in der Art der Gewichtsveränderung der Tiere während ihrer Fütterung. In der Tabelle XX sind die Gewichte der mit rohen und hitzeinaktivierten Leguminosen gefütterten Tiere wiedergegeben.

Tabelle XXI.

Gewichtszunahme der mit Bohnen, Erbsen, Linsen gefütterten Ratten.

Zubereitung des Futters	Geschlecht	Bohnen		Erbsen		Linsen	
		Ge- wicht g	Zu- nahme	Ge- wicht g	Zu- nahme	Ge- wicht g	Zu- nahme
roh	♂	96	0	56	29	78	50
	♀	—	—	73	49	69	23
inaktiviert .	♂	74	0	52	25	49	35
	♀	90	13	53	59	69	54
roh	♂	—	—	1,1	1,7	0,9	0,4
inaktiviert .	♀	—	—	1,0	2,4	1,4	1,5
Zunahme auf 1 g berechnet.							
roh	♂	—	0	—	0,5	—	0,66
	♀	—	—	—	0,7	—	0,35
inaktiviert .	♂	—	0	—	0,5	—	0,7
	♀	—	0,15	—	1,1	—	0,8

Die Gewichtsveränderungen von mit gleicher Nahrung gefütterten Tieren sind ziemlich gleichartig. Große Differenzen machen sich nur bei Verfütterung verschiedener Leguminosenarten bemerkbar. Leider war es aus äußeren Gründen nicht möglich, bei diesem Versuch ganz gleichgewichtige Tiere einzustellen, ein Versuchsfehler, der aber den Verlauf nicht wesentlich beeinflusste. Vor allen Dingen ist die maximale Gewichtszunahme immer mit der Lebensdauer in einen Zusammenhang zu bringen, und zwar ist es, wie Tabelle XXI zeigt, immer dasjenige von den gleichgefütterten Männchen und Weibchen, welches die maximale Gewichtszunahme aufweist, das auch am längsten lebt. Dies beobachteten wir 1. bei Bohnennahrung: nur das mit hitzeinaktivierten Samen gefütterte Weibchen zeigt eine Gewichtszunahme. 2. Erbsennahrung: von beiden Versuchspaaren (rohe und inaktivierte Nahrung) zeigen die Weibchen die größere maximale Zunahme. 3. Bei Linsennahrung: bei rohen Linsen weisen die Männchen, bei hitzeinaktivierten die Weibchen den größten Gewichtszuwachs auf. Daß diese Erscheinung nicht mit den Anfangsgewichten verknüpft ist, ersehen wir auch aus

Tabelle XXI, denn wenn wir die auf 1 g Anfangsgewicht berechneten maximalen Gewichtszunahmen vergleichen, können wir dieselbe Erscheinung beobachten. Damit ist auch bewiesen, daß die Unterschiede in den Anfangsgewichten die Resultate nicht wesentlich beeinflußt haben. Beachtenswert ist auch der Umstand, daß die Männchen absolut wie relativ eine geringere maximale Gewichtszunahme aufweisen, während eben bei gemischter Kost die Männchen viel schneller wachsen als die Weibchen. Die Gültigkeit dieser Beobachtung wird dadurch bestärkt, daß sie auch in dem Fall gemacht werden konnte, wo die Weibchen größer als die Männchen gewählt wurden, wobei doch jüngere (kleinere) Tiere im allgemeinen schneller wachsen als die größeren. Die Männchen zeigen sich also in diesem Versuche weniger resistent als die Weibchen. In Tabelle XXII wurde die Lebensdauer der Tiere und der Zeitpunkt der maximalen Gewichtszunahme aufgezeichnet, wodurch der Gesamtablauf der Gewichtskurve sehr gut charakterisiert wird.

Tabelle XXII.

Lebensdauer, Zeit des Gewichtsmaximums der mit Bohnen, Erbsen, Linsen gefütterten Tiere.

Zubereitung des Futters	Geschlecht	Bohnen		Erbsen		Linsen	
		Lebens- dauer	Zeit- maximum	Lebens- dauer	Zeit- maximum	Lebens- dauer	Zeit- maximum
roh	♂	5	—	57 — 34 23 19	278 — 254 24 52		
	♀			114 — 95 58	155 — 103 11		
inaktiv	♂	10	—	115 — 57 19	131 — 120 58		
	♀	64 — 28 36		183 — 164	222 — 164		

Tabelle XXII zeigt, daß die maximale Gewichtszunahme durchaus nicht von allen Tieren zu dem gleichen Zeitpunkt erreicht wird. Die Zeiten sind aber bei den Männchen sowohl wie bei den Weibchen in einfachen Zusammenhang mit den verschiedenen Leguminosen zu setzen.

1. Die Erbsen- sowohl als auch die Linsen-Weibchen erreichen ihr größtes Gewicht in gleichen Zeiträumen vor dem Tode. Dieser beträgt bei Erbsen 19, bei Linsen 52 resp. 58 Tage.

2. Bei den Männchen ist der Abstand: Tag des maximalen Gewichtes — Todestag direkt proportional der Lebensdauer. Rohe Erbsen: das maximale Gewicht wird am 23. Tage vor dem Tode erreicht (Lebensdauer 57 Tage); hitzeinaktivierte Erbsen: 58 Tage vor dem Tode,

Lebensdauer 115 Tage; rohe Linsen: das Männchen lebt 276 Tage und wiegt am meisten 24 Tage vor dem Tode; hitzeinaktivierte Linsen: die Lebensdauer des Männchens beträgt 131 Tage, 11 Tage vor dem Tode erreicht es sein Gewichtsmaximum. Aus diesen Daten kann man wohl schließen, daß zwischen Ernährung und Gewichtsabnahme vor dem Tode eine einfache Beziehung bestehen muß. Nur bei Erbsen und Linsen macht das ganz verschiedene Verhalten von Männchen und Weibchen einen Vergleich unmöglich. Außerdem ist, wie schon erwähnt, auch der Gesamtablauf der Kurven ein anderer, so daß geschlossen werden kann, daß zwischen den beiden Hülsenfrüchten mehr als ein biologischer Unterschied besteht. Weitergehende Details sollen spätere systematische Versuche ergeben, die zum Gegenstand den Vergleich verschiedenartig hergestellter Nahrungsmittel aus Leguminosen haben. Die Ergebnisse dieser Versuche sind dahin zusammenzufassen, daß die verschiedenen Hülsenfrüchte in ihrem biologischen Wert stark differieren. Dieser biologische Wert findet auch in der geltenden Preisskala seinen zutreffenden und augenfälligen Ausdruck.

Natürlich spielen bei der Preisfrage auch andere Faktoren, wie Genußwert, Verdaulichkeit eine Rolle. Es waren wieder die Resultate der Versuche mit ausschließlich einseitiger Ernährung (wie bei Hefe), die die Unterschiede im biologischen Wert der Nahrungsmittel ganz kraß gezeigt haben. Mac Collum und Simmonds¹⁾ schreiben:

„So far as chemical methods have been able to show the bean and „pea contain all the known amino-acids necessary for nutrition and is „no unsymmetrical distribution as in the case of wheat and maize „proteins, yet the legume protein have only about a half the value of „those of wheat and maize. Such experiments as these emphasize, „what must be considered by one who reflects upon this problem viz „that there is entirely a too great a tendency to put faith in a date „derived from a chemical analysis as an indication of the value of the „protein in animal nutrition.“

Aus unseren Versuchen ersieht man auf diese Weise die großen Unterschiede zwischen Linsen, Erbsen, Bohnen. In vielen Fällen wird man zweifellos zu dem Hilfsmittel des ausschließlich einseitigen Ernährungsversuches greifen müssen, um die beste Zustandsform eines Nahrungsmittels ausfindig zu machen — hier sei an die Wirkung des Hitzeinaktivierens der Leguminosen erinnert — bevor man Gemische verwendet, wie es die englischen und amerikanischen Forscher tun.

¹⁾ Mac Collum and Simmonds, The Journ. of biol. chem. **32**, 351.

Über die Rolle des Geschmackes (Instinkt) in der Ernährung ¹⁾.

Leguminosen.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Die Versuche von Pawlow bildeten die Grundlage für die Annahme, daß die Genußstoffe der Nahrung für die Magenverdauung von höchster funktioneller Bedeutung sind. Und zwar erstreckt sich ihre Wirkung nicht nur auf die Auflösung des sekretorischen Vorganges, sondern auch auf Quantität und Qualität des abgesonderten Magensaftes. Deshalb kann man Pirquet nicht folgen, wenn er gleich so vielen anderen die Eigenschaften der Nahrung vernachlässigt und damit die besondere Bedeutung der Pionierarbeit Pawlows in Abrede stellen will. Denn eben diese Arbeiten erbringen den ersten exakten, weil experimentellen Beweis für die funktionelle Bedeutung der sog. Genußstoffe. Reines Eiweiß, Stärke und Fett sind geschmacklos, sie kommen auch als ausschließliche Nahrung für Mensch und Tier nicht in Betracht. Andererseits ist es eine ganz allgemeine Tatsache, welche große Rolle bei Mensch und Tier die Gewöhnung an bestimmte Speisen spielt, deren Wesensart vor allen Dingen in Geruchs- und Geschmacksbesonderheiten besteht. Ebenso bekannt ist es, daß die Sinne so stark auf die vorgesetzte Nahrung reagieren, daß Tiere z. B. eher Hungers sterben, wenn sie die gewohnte Nahrung nicht erhalten oder daß sie zu lange Zeit hindurch gereichte verschmähen. Bei den in den letzten Jahren ausgeführten einseitigen Ernährungsversuchen beobachteten verschiedene Autoren, daß die Tiere oft, noch ehe sie an den Folgen der einseitigen Ernährung erkranken würden, die Nahrungsaufnahme einzuschränken oder sogar zu verweigern beginnen. Es wäre noch zu untersuchen, ob nicht die Aufnahme der Nahrungsmittel einer reflektorischen Regulierung von seiten des

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig und St. Deutsch ausgeführt.

Nervensystems unterliegt, so daß der im Geschmack repräsentierte Teil des Instinktes die Qualität der Nahrung ebenso bestimmt wie der Appetit (Hungergefühl) deren Quantität. Wir wissen aus der Ernährungslehre, daß obwohl der Geschmack sehr beeinflussbar ist, seine Richtlinien doch so fest gezogen sind, daß er als Charakteristicum bestimmter Völker oft ausgesprochener ist als sprachliche Besonderheiten und dementsprechend oft schwer zu beeinflussen, wenn es sich um erwachsene Individuen handelt. Wie zähe die Völker an einmal angenommenen Gewohnheiten hängen, illustriert am schönsten die Geschichte der Kartoffel in Europa.

Es ist bestimmt, daß psychische Phänomene großen Anteil am Zustandekommen von Gewohnheiten und ihren Folgeerscheinungen haben. Inwieweit aber die Gewohnheit Gegenstand der Physiologie ist, können wir annähernd aus Versuchen an Tieren erschen, bei denen psychische Einflüsse von seiten des Experimentators wohl als ausgeschaltet gelten können. Unsere Versuche auf diesem Gebiete sind 2 Richtlinien gefolgt. Vor allem handelt es sich um folgende 2 Funktionen:

1. Wie hängt die Ernährung der Tiere von ihrem Geschmack ab,
2. wie hängt der Geschmack der Tiere von der vorhergegangenen Ernährung ab?

In den nächsten Zeilen soll vor allem versucht werden, auf die erste Frage Antwort zu geben. Die Einrichtung der zu diesem Zweck aufgestellten Versuche war ziemlich einfach, schwieriger ihre Durchführung. Als Versuchstiere dienten meistens 3 Männchen und 3 Weibchen weißer Ratten, die getrennt in Glaskäfigen, wie sie in der Einleitung beschrieben sind, gehalten wurden. Sie erhielten gewöhnlich dreierlei verschiedene Nahrungsmittel in gewogenen Mengen vorgelegt, die Reste des Futters wurden während der ersten Woche des Versuches täglich zurückgewogen, im späteren Verlauf in längeren Intervallen. In letzterem Falle wurde von einem einmal gewogenen Futtervorrat nach Bedarf jeden oder jeden 2. Tag zugegeben, nach bestimmten Intervallen wurden die Reste gemessen und zurückgewogen. Bei leicht verderblichen Nahrungsmitteln wurde die Rückwägung in der Weise vorgenommen, daß die Reste täglich aus dem Käfig entfernt, im Trockenschrank getrocknet und nach der Trockensubstanz die Menge berechnet wurde. In allen Versuchen wurde nebst den Nahrungsmitteln auch Wasser gereicht. Die Genauigkeit der Versuchsdurchführung wird durch den Umstand beeinträchtigt, daß das Zerstreuen der Nahrung durch die Tiere nicht hintangehalten werden kann. Wir haben die Fehlergröße teilweise feststellen können, indem wir die Versuche mit vielen Tieren und unter verschiedenen Bedingungen ausgeführt haben und in erster Linie weiße Ratten dazu verwendeten, die wegen ihrer nahezu quantitativen Nahrungsaufnahme — sie entnehmen das Futter mit den Vorderpfoten dem Näpfchen —

die genaue Feststellung bei weitem nicht so erschweren wie z. B. Mäuse. Größer sind die Fehler, wenn Mehle verfüttert wurden; sie fallen aber auch nicht sehr ins Gewicht, wovon wir uns durch wiederholtes Sammeln und Wägen des im Käfig verstreuten Futteranteiles überzeugen konnten¹⁾. Denn wenn wir die so ermittelten Mengen dem im geringsten Maße verzehrten Nahrungsmittel zurechnen, kommen wir noch immer zu Größen, die die erhaltenen Resultate nicht verändern können. Die sicherste Methode, diese Art von Versuchsfehlern auf ein Minimum herabzusetzen, besteht darin, den verstreuten Rest nach seinen Bestandteilen (bei Cerealien, Leguminosen in ganzen Samen) zu sondern und diese getrennt abzuwägen, ein Verfahren, das aber auch nicht immer möglich, sehr mühsam und zeitraubend ist. Selbstverständlich wäre es von höchster Wichtigkeit, solche Versuche in großem Maßstabe auch an größeren Tieren (Haustieren) anzustellen; die technischen Schwierigkeiten — Kostspieligkeit des Futters, Haltung und Pflege der Tiere — sind aber vorläufig so große, daß wir uns mit Ratten begnügen mußten.

Daß zwischen zweckmäßiger Ernährung und instinktiver Auswahl bestimmte gesetzmäßige Zusammenhänge vorhanden sein müssen, hat man ja eigentlich immer angenommen, wenn auch daraufhin keine exakten Versuche ausgeführt.

So schreibt Bunge²⁾ anlässlich der Untersuchung einer als Kochsalz benützten Pflanzenasche: „Es ist eine wunderbare Tatsache, daß der Instinkt der Naturvölker aus allen Pflanzen eine so natronreiche und kaliarme herausgefunden hat“. Auch Hopkins³⁾ weist, wenn auch nur in einer Fußnote, darauf hin, wenn er schreibt: „Only those perhaps, who have had the experience of feeding animals with excess of food and have noticed the amount eaten for considerable periods, will realize, how well adjusted under normal circumstances is the instinctive appetite to the physiological needs.“ Versuche teilt er allerdings nicht mit. Osborne und Mendel⁴⁾ haben ihre synthetischen Nahrungen den Tieren zur Auswahl vorgelegt und dabei beobachtet, daß die Tiere die das Wachstum fördernde Nahrung bevorzugt haben. Jedoch werden die Nahrungsmittel bei ihrer Herstellung immer so stark verändert, daß wir, um diesen Umstand auszuschalten, von ihrem natürlichen Zustand ausgegangen sind.

Endlich soll noch eine Beobachtung von Moleschott⁵⁾ angeführt werden, die heute von besonderem Interesse ist.

¹⁾ Es muß darauf geachtet werden, daß den Tieren die Nahrung in nicht zu großen Quantitäten vorgelegt wird. Geschieht dies nämlich, dann verstreuen die Tiere ganz ansehnliche Mengen beim Entnehmen. Es ist vielleicht nicht ohne tiefere Bedeutung, daß sich in der Eßweise der verschiedenen Tiere Eigenarten bemerkbar machen, und zwar von einer ausgesprochen quantitativen Eßweise bis zu der „Gewohnheit“, die Futternäpfchen — nicht ohne Anwendung von Gewalt — aus ihrer Befestigung zu lösen und den Inhalt zu verstreuen. Einige der Tiere, die eben zu diesem Verhalten neigten, mußten wegen dessen Konsequenz aus den Versuchen ausgeschieden werden.

²⁾ Bunge, Zeitschr. f. Biol. 1901, S. 484.

³⁾ Hopkins, Journ. physiol. 44, 442.

⁴⁾ Osborne und Mendel, The Journ. of biol. chem. 35, 19.

⁵⁾ Moleschott, Physiologie der Nahrungsmittel. Gießen 1859.

Dieser Forscher hat sich auch mit den Regelmäßigkeiten der „Eblust“ beschäftigt und dabei beobachtet, daß „Menschen, die an Skorbut oder an ähnlichen faulichten Krankheiten leiden, essen häufig gerne saure Früchte, Limonen und Pomeranzen“, ohne aber diesen Früchten eine spezielle „antiskorbutische“ Wirkung zuzuschreiben.

a) Die Leguminosen.

Aus dem 3. Teil ergibt sich, daß die Leguminosen trotz ihrer systematisch so nahen Verwandtschaft und chemischen Gleichartigkeit ganz verschiedene biologische Wirkungen auf unsere Versuchstiere ausüben, wenn wir als Maßstab dafür die Lebensdauer der mit den verschiedenen Hülsenfrüchten einseitig ernährten Tiere annehmen wollen. Um die erhaltenen Beobachtungen kurz zu wiederholen: Von Bohnen leben die Tiere wenige Tage, bedeutend länger von Erbsen, am längsten (4—9 Monate) von Linsen. Nun lag uns daran, festzustellen, inwieweit die Tiere vom Selbsterhaltungstrieb geleitet werden, wenn sie die 3 Arten zur Auswahl vorgelegt erhalten. Die Einrichtung der Versuche entspricht den oben gemachten Angaben. Es wurden zunächst 3 Vergleichversuche mit je 6 Tieren aufgestellt. Und zwar wurden einmal ganze Bohnen, Erbsen, Linsen, das zweitemal dieselben Früchte in Mehlform und im dritten Versuch die Mehle der unter Hitze inaktivierten Samen verabreicht. Die Versuche wurden bis zum Tode der Tiere fortgeführt, denn nur die Kontrolle des Verhaltens bis zu einem natürlichen Abschluß läßt feststellen, wieweit der Instinkt als Leitfaden in sonst unbegreiflichen Schwankungen und Veränderungen angesehen werden kann.

1. Fütterungsversuche mit ganzen Bohnen, Erbsen und Linsen. In Tabelle XXIII sind die Mittelwerte der verbrauchten Nahrung und die von Zeit zu Zeit aufgezeichneten Gewichte aller 6 Tiere aufgenommen. Die Anführung der Mittelwerte ermöglicht eine klarere Übersicht, die infolge individueller Schwankungen bei Angabe der Einzelwerte nicht so eindeutig zustande kommen würde. Dann erst sollen die Einzelwerte zusammengestellt erscheinen, aus denen man sehr gut ein eventuell abweichendes Verhalten bei Männchen und Weibchen, sowie feinere individuelle Schwankungen innerhalb der Geschlechter erschen kann.

Sämtliche Tiere sind binnen 149 Tagen gestorben, d. h. die letztgenannte Lebensdauer erreichte nur ein Tier, die anderen verendeten alle in der Zeit vom 9. IV. bis 25. IV., also nach 68—84 tägiger Versuchszeit, wenn sie die Möglichkeit hatten, ihre Nahrung nach Belieben aus den 3 Hülsenfruchtarten zu wählen. Die Tiere erreichen ihr Gewichtsmaximum 2 Wochen nach Versuchsbeginn, am 18. II., von da an sinkt das Gewicht einen Monat hindurch in schwacher Erniedrigung, so daß sie binnen 4 Wochen im Mittelwert 6,4 g einbüßen. Der folgende Ge-

Tabelle XXIII.

Auswahlversuch: Bohnen, Erbsen, Linsen.

Datum	Mittleres Gewicht g	Tage**)	Mittlerer Verbrauch an			Gesamte Nahrung*)	Bemerkung
			Bohnen	Erbsen	Linsen*)		
1. II.	154	1	1,1	0,7	3,7	5,5	
2. II.	—	1	0,4 ₅	6,2	8,5	15,1 ₅	
3. II.	—	1	0,2	9,1 ₅	9,2	18,5 ₅	
4. II.	—	1	0,0 ₅	0,0	10,8 ₅	10,9 ₅	
5. II.	—	1	0,6	11,6	7,3	19,5	
7. II.	—	2	0,5	8,9	7,5	16,9	
9. II.	—	2	0,8 ₅	12,1	8,5	21,5	
10. II.	—	1	1,6	9,0	6,2	16,8	
11. II.	—	1	1,2	10,2	7,4	18,8	
12. II.	—	1	1,3 ₅	10,3 ₅	5,0	16,8 ₅	
14. II.	—	2	1,0	10,1	5,4	16,5	
15. II.	173	1	1,3	12,5	5,0	18,8	
24. II.	—	9	2,1	8,9	4,7	15,7	
2. III.	—	6	4,9	9,0	4,9	18,6	
3. III.	164	—	—	—	—	—	Tier 5 ♀ gestorben. Anfangsgewicht 174 g; gestorben mit 124 g.
9. III.	—	7	3,6 ₅	10,8	7,4 ₅	21,7 ₅	Tier 6 ♂ gestorben. Anfangsgewicht 171 g.
17. III.	—	8	4,8 ₇	8,1	9,7	22,6 ₇	
19. III.	166,6	—	—	—	—	—	
24. III.	—	7	3,9 ₅	11,4 ₅	13,5 ₅	28,9 ₅	
30. III.	149	—	—	—	—	—	
6. VI.	148	—	—	—	—	—	
9. IV.	—	14	1,7	6,1 ₄	6,5 ₄	14,4	
13. IV.	127,5	—	—	—	—	—	
18. IV.	—	9	0,8	5,8	11,1	17,7	Tier 3 ♀ gestorben. Anfangsgewicht 171 g.
							Tier 4 ♂ gestorben. Anfangsgewicht 144 g.
20. IV.	117	—	—	—	—	—	
25. IV.	—	7	3,0	7,4	11,9	22,3	Tier 2 ♂ gestorben. Anfangsgewicht 142 g.
28. IV.	115,6	—	—	—	—	—	
3. V.	—	8	1,3	6,3	13,8	21,4	
11. V.	110	—	—	—	—	—	
13. V.	—	10	0,0	10,4	16,0	26,4	
18. V.	—	5	0,7	18,6	10,0	29,3	
20. V.	110	—	—	—	—	—	
23. V.	—	5	0,0	6,2 ₅	22,5	28,7 ₅	
31. V.	120	7	0,0	7,5	6,3	13,8	
8. VI.	—	7	0,0	19,4	13,1	32,5	
11. VI.	—	7	0,0	3,3	10,0	13,3	Tier 1 ♀ gestorben. Anfangsgewicht 122 g.

*) Pro Tag berechnet.

**) Anzahl von Tagen, für welche der Mittelwert berechnet wurde.

wichtsabfall geht rapid vor sich, so daß sie in den nächsten 7 Wochen 18,6 g im Mittelwert verlieren. Die Gewichtsabnahme geht weiter und in dieser Periode sterben die meisten Tiere. Was die Nahrungsaufnahme betrifft, können wir aus der Tabelle XIII ersehen:

1. Der Verbrauch an Bohnen ist absolut und auch im Verhältnis zur aufgenommenen Gesamtnahrung sehr gering. Das Minimum liegt in diesem Fall bei Null (die Bohnen werden nicht einmal berührt) und ist zu Beginn und in der mittleren Periode des Versuches mehrere Tage anzutreffen, wird aber gegen Ende der Versuchszeit zur Regel, wie das überlebende Tier zeigt, das während eines Monats nur kurze Zeit (5 Tage lang) Bohnen in minimalen Mengen zu sich nimmt. Das Maximum wird durch einen Verbrauch von ungefähr 5 g Bohnen pro Tag erreicht und währt längere Zeit hindurch. Dieser höchste Wert beträgt 27% der Gesamtnahrungsaufnahme (während 6 Tagen).

2. Die zeitliche Veränderung der Bohnenaufnahme ist eine ganz regelmäßige. Ein Tiefpunkt liegt zu Beginn des Versuches — 1 g am 1. Tage —, er ist es aber nur als absolute Größe betrachtet, da der Wert im Verhältnis zur Gesamtnahrung dieses Tages beträchtlich ist. Dieses Verhältnis wird schon am nächsten Tag gestört, denn der absolute Wert sinkt, die Gesamtnahrung aber nimmt dabei beträchtlich zu. Der Bohnenverbrauch sinkt dann 4 Tage lang hindurch, so daß es den Anschein erweckt, als hätten die Tiere sich einen Schaden zugezogen. Auf diese Erscheinung werden wir noch bei Betrachtung der Einzeltiere näher eingehen. Vom 5. Tag an wächst die Aufnahme der Bohnen langsam und regelmäßig 3 Wochen hindurch, um sich beiläufig während eines Monats mit kleinen Abweichungen auf gleicher Höhe zu halten. Auf diese Periode folgt eine der regelmäßigen Abnahmen des Bohnenverbrauchs, die mit kleinen Unterbrechungen bis zum Ende des Versuches dauert, da die meisten Tiere vor ihrem Tode und besonders das überlebende Tier bis zur Zeit seines Todes die Bohnenaufnahme sistieren.

3. In den ersten 4 Versuchstagen ist der mittlere Verbrauch von Linsen größer als der von Erbsen, so daß einem Hochstand der Bohnen in derselben Periode auch ein solcher der Linsen entspricht. In dem ersten Abschnitt scheint die Stellung der einzelnen Leguminosen der Verbrauchsmenge nach genau so geordnet wie nach ihrer Wirkungsart auf die Lebensdauer zu erwarten war. Die Tiere können einseitig ernährt am längsten von Linsen leben, sie ziehen auch zunächst die Linsen den anderen vorgesetzten Hülsenfrüchten vor. An zweiter Stelle stehen im Mittelwert die Erbsen und an letzter die Bohnen. Es zeigt sich also, daß zu Beginn des Versuches der Instinkt in uneingeschränkter Zweckmäßigkeit funktioniert.

4. In der zweiten ziemlich deutlich abgrenzbaren Periode ist der mittlere Verbrauch von Erbsen größer wie der der Linsen. In dieser

Zeit sinkt der Verbrauchswert der Linsen so stark, daß er mit dem der Bohnen, der inzwischen sehr gewachsen war, zusammenfällt. Es ist auffallend genug, daß zu diesem Zeitpunkt ein Tier stirbt und der Linsenkonsum der Überlebenden zu wachsen beginnt. Einen Monat lang hält er sich annähernd auf gleicher Höhe, indem er wieder den Bohnenwert kompensierend verläuft.

5. Im anschließenden Zeitraum, der sich beiläufig über 7 Wochen erstreckt, sehen wir einen bedeutend größeren Abstand zwischen „Linsenlinie“ (zu oberst) und Erbsenlinie. Von da an ist die Gliederung in abgrenzbare Perioden nicht mehr durchzuführen, da das einzig überlebende Tier nach kurzen Intervallen große und unregelmäßige Schwan-

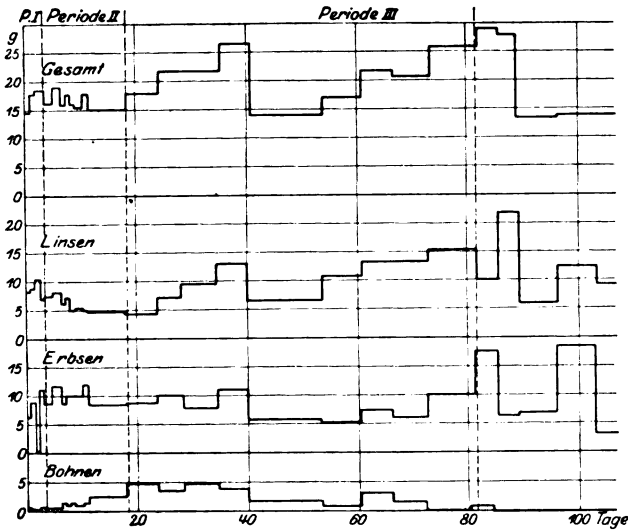


Diagramm I. Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

kungen im Verbrauch von Erbsen und Linsen zeigt, nur im absoluten Verschmähen der Bohnen Beständigkeit. Dieses Schwanken könnte man als ein letztes Regulativ von seiten des Instinktes ansehen, der das Tier eine „lebensrettende“ Nahrung suchen und die gegebenen Möglichkeiten erproben läßt, aber ohne Erfolg, weil jener lebensrettende Faktor in Erbsen und Linsen nicht enthalten ist. Dieser Zeitraum endet mit dem Tode des letzten Tieres, das in der Woche vor seinem Tode ungefähr in 3 Zeitabschnitten mehr Linsen als Erbsen gefressen, Bohnen jedoch überhaupt nicht mehr berührt hat. Trotz fast ständigen Wechsels zwischen Linsen und Erbsen ist der Verbrauch von ersteren größer und zwar insgesamt 378,3 g Linsen gegen 335,6 g Erbsen.

In diesem Versuch sehen wir, daß, von einer mittleren Periode abgesehen, im ersten und letzten Zeitraum des Versuches die Tiere, wenn

ihnen eine engere Wahl gelassen wird, demjenigen Nahrungsmittel den Vorrang geben, von dem sie, einseitig ernährt, ihr Leben am längsten fristen würden. Der Instinkt führt sie also im Verlauf des Versuches zu einer zweckmäßig lebenserhaltenden Auswahl der Nahrung.

Leben die Tiere länger, wenn sie die beste Nahrung, Linsen, ohne andere Zugaben, erhalten oder wenn sie ihr Futter aus den 3 Leguminosenarten nach Belieben zusammenstellen können? Die Lebensdauer der Tiere dieses Auswahlversuches ist in Tabelle XXIV zusammengestellt.

Tabelle XXIV.
Lebensdauer der mit Bohnen, Erbsen und Linsen gefütterten
Tiere in Tagen.

Nr.	♀	♂
1	131	—
2	—	84
3	77	—
4	—	77
5	30	—
6	—	68
Mittelwert: 79,3		76,3

Die mittlere Lebensdauer der Männchen und Weibchen ist nahezu gleich, aber bedeutend geringer als der mit Linsen allein gefütterten Tiere, von denen das Männchen 275, das Weibchen 154 Tage lebt. Es ist also bewiesen, daß die instinktgeleitete Nahrungswahl zwischen Linsen, Erbsen und Bohnen sich nicht als zweckmäßig erwies, in dem Sinne nämlich, daß die Lebensdauer durch die von den Tieren zusammengestellte Kombination der 3 Leguminosenarten verkürzt wird im Vergleich zu der optimal erreichbaren, nämlich der bei einseitiger Ernährung mit Linsen. Der Instinkt bewährt sich also als Wegweiser nur insofern, als er die Tiere dazu bringt, die zweckmäßige Reihenfolge der Leguminosen ausfindig zu machen. Dadurch aber, daß die Tiere ständig ihre Prädilektionsnahrung ändern, zeigen sie sich als nicht zweckentsprechend geleitet, denn dieser Weg führt zu einer Verkürzung der Lebensdauer. Eine weitere Einschränkung erfährt der Wert des Instinktes als Leiter bei der freien Nahrungswahl insofern, als er die Tiere dazu bringt, von den biologisch schlechteren Nahrungsmitteln mehr zu sich zu nehmen als es im Verhältnis zur Lebensdauer bei einseitiger Ernährung entsprechend wäre.

In Tabelle XXV sind die in Periode 1, 2 und 4 verbrauchten, absoluten Mengen an Leguminosen und die daraus gebildeten Verhältniszahlen angegeben. Beim Vergleich der letztgenannten Werte mit den Verhältniszahlen der Lebensdauer bei einseitiger Ernährung ergibt sich die Tatsache, daß — außer der letzten Periode, in der der Verbrauch

Tabelle XXV.
Auswahlversuch: Bohnen, Erbsen, Linsen.

Versuchs- periode	Dauer der Versuchs- periode Tage	Mittelwert der Gesamtmenge pro Tier an		
		Bohnen g	Erbsen g	Linsen g
I	5	1,8	16,05	22,25
III	53	129,2	489,7	955,2
IV	31	3,5	335,6	378,3

Tabelle XXVa.

Periode	Verhältniszahlen			Verhältniszahlen der Lebensdauer bei einseitiger Ernährung			
	E. B.	L./B.	L./E.	♀	E./B.	L./B.	L./E.
I	8,9	12,4	1,39	♂	11,4	55,6	4,9
III	3,9	7,4	1,95	♀	28,5	38,3	1,37
IV	95,9	108,1	1,13	♀ + ♂	19,0	48	2,5

von Bohnen auffallend gering ist — im allgemeinen die Tiere von der biologisch besseren Nahrung nicht nur absolut weniger fressen, sondern sogar weniger als es den Lebensdauerverhältniszahlen entsprechen würde.

Aus der Betrachtung der mittleren Werte der Nahrungsaufnahme haben wir ersehen, daß diese einen ganz typischen Verlauf nimmt, nun wollen wir die Nahrungsaufnahme der einzelnen Tiere miteinander vergleichen. Daraus ersehen wir in erster Linie die individuellen Differenzen und erst danach können wir weitere Schlüsse auf Zusammenhänge ziehen, die zwischen der Nahrungsaufnahme und dem Schicksal der einzelnen Tiere bestehen könnten. Zu diesem Behufe werden hier die Tiere nach der Länge ihrer Lebenszeit geordnet, angeführt. Tier 5 (Weibchen) zeigt absolut dasselbe Verhalten, wie es den Mittelwerten der Nahrungsaufnahme entsprechen würde.

1. Der Bohnenverbrauch ist am 1. Tage verhältnismäßig sehr groß, sinkt aber schon am 2. Tage bis Null, um sich während der nächsten Wochen über dieses Minimum nur ein einziges Mal zu erheben und auch da nur bis 0,4 g. Von da an beginnt die stete Steigerung der Bohnenkurve bis zu dem in den Mittelwerten schon angeführten Maximum und dem zu diesem Zeitpunkt eintretenden Tod.

2. Der Verbrauch von Linsen ist zunächst größer als der von Erbsen. Diese Periode aber erscheint gegenüber dem Mittelwert verkürzt, das Tier frißt nämlich nur 10 Tage lang mehr Linsen als Erbsen, geht dann zu Erbsen als meistverzehrt Nahrung über, bei der es bis zu seinem, in der 2. Periode eintretendem Tod verbleibt. In den ersten 2 Wochen nimmt es an Gewicht zu, magert aber dann binnen 2 Wochen rapid ab und stirbt.

Tabelle XXVI.
Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 5 ♀			Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	174	1	5,8	0,4	4,1	10,3
2. II.	—	1	10,0	4,2	0,0	14,2
3. II.	—	1	9,3	7,5	0,4	17,2
4. II.	—	1	14,5	0,3	0,0	14,8
5. II.	—	1	14,2	5,0	0,0	19,2
7. II.	—	2	28,0	7,5	0,0	35,5
9. II.	—	2	14,2	11,15	0,0	25,3
10. II.	—	1	9,3	1,7	0,0	11,0
11. II.	—	1	5,5	8,1	0,0	13,6
12. II.	—	1	5,0	11,0	0,0	16,0
14. II.	—	2	8,5	26,0	0,8	35,3
15. II.	180	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	12,5	15,0	0,5	28,0
24. II.	—	9	4,66	12,0	2,4	19,0
2. III.	—	—	4,3	9,1	4,7	17,1
3. III.	124 †	—	—	—	—	—

Tabelle XXVII.
Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 6 ♂			Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	171	1	10,0	2,6	0,2	12,8
2. II.	—	1	10,0	9,4	0,2	19,6
3. II.	—	1	10,0	10,0	0,4	20,4
4. II.	—	1	10,5	0,0	0,14	10,6
5. II.	—	1	8,5	15,0	1,4	24,9
7. II.	—	2	7,0	30,0	0,0	37,0
9. II.	—	2	12,7	15,0	0,7	28,4
10. II.	—	1	4,2	15,0	2,0	21,2
11. II.	—	1	8,5	15,0	1,5	24,5
12. II.	—	1	5,6	15,0	0,1	20,7
14. II.	—	2	7,9	30,0	1,7	39,6
15. II.	199	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	5,0	15,0	1,6	21,6
24. II.	—	9	3,0	13,3	2,1	18,4
2. III.	—	6	5,0	10,0	5,7	20,7
3. III.	213	—	—	—	—	—
9. III.	—	7	7,2	7,1	5,3	19,6
17. III.	—	8	9,0	10,25	5,75	25,0
19. III.	188	—	—	—	—	—
24. III.	—	7	11,4	15,6	3,4	30,4
30. III.	163	—	—	—	—	—
6. IV.	162	—	—	—	—	—
9. IV.	†	14	8,3	6,6	0,6	15,5

Tier 6 (Männchen). Der Verlauf der Nahrungsaufnahme weicht bei diesem Individuum schon mehr von dem Mittelwerte ab. 1. Der Bohnenverbrauch ist in den ersten Tagen minimal, steigt vom 4. Tage an und nimmt, von periodenweiser Sistierung abgesehen, immer mehr und mehr zu, bis das Maximum zusammenfallend mit dem der Mittelwerte erreicht wird. 2. In den ersten 4 Tagen frisst das Tier mehr Linsen als Erbsen, geht dann zu Erbsen als bevorzugter Nahrung über, bei welcher es auch länger verbleibt als Nr. 5 (und der Mittelwert), um erst kurz vor dem Tode wieder zu Linsen als Hauptnahrung zurückzukehren.

Tier 3 (Weibchen) verhält sich wieder ganz ähnlich wie Tier 5 und hiermit also auch wie die Mittelwerte. 1. Das Tier frisst am 1. Tage etwas Bohnen, in den folgenden 11 Tagen überhaupt keine, von dem Zeitpunkt an gerechnet erreicht der Bohnenverbrauch nach 4 Tagen das Maximum, verbleibt längere Zeit hindurch auf derselben Höhe und sinkt dann langsam vor dem Tode auf ein Minimum. 2. In den ersten 4 Tagen stehen Linsen an erster Stelle, die sie dann aber den Erbsen räumen. Die zweite Periode — relativ maximaler Erbsenver-

Tabelle XXVIII.
Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 8 ♀			Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	171	1	1,1	0,0	0,3	1,4
2. II.	—	1	10,0	—	0,0	—
3. II.	—	1	9,9	10,0	0,0	19,9
4. II.	—	1	12,2	0,0	0,0	12,2
5. II.	—	1	1,0	15,0	0,0	16,0
7. II.	—	2	9,0	24,5	0,0	33,5
9. II.	—	2	1,3	13,1	0,0	14,4
10. II.	—	1	2,4	8,4	0,0	10,8
11. II.	—	1	3,5	18,3	0,0	21,8
12. II.	—	1	0,8	8,0	0,0	8,8
14. II.	—	2	3,3	18,8	0,2	22,3
15. II.	172	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	3,6	11,0	0,0	14,6
24. II.	—	9	8,36	4,0	1,15	13,5
2. III.	—	6	4,0	7,6	5,76	17,3
3. III.	168	—	—	—	—	—
9. III.	—	6	3,9	11,83	2,54	18,37
17. III.	—	8	10,6	11,36	4,1	26,06
19. III.	178	—	—	—	—	—
24. III.	—	7	9,28	7,4	4,1	20,8
30. III.	155	—	—	—	—	—
6. IV.	157	—	—	—	—	—
13. IV.	152	—	—	—	—	—
20. IV.	—	—	—	—	—	—
9. IV.	—	16	8,2	5,5	1,0	14,7
18. IV.	†	9	11,0	6,2	0,2	17,4

brauch — dauert ungefähr 1 Woche länger als der Mittelwert darstellt. Dann folgt wieder eine Zeit des stärksten Linsenkonsums und in dieser dritten Periode stirbt das Tier.

Tier 4 (Männchen). Die Höhe des Bohnenverbrauchs entspricht genau der im Mittelwert erschienenen, das Verbrauchsverhältnis Linsen zu Erbsen ist etwas verschoben. 1. Bohnen werden nur am 1. Tage gefressen, dann 11 Tage lang nicht. Anschließend sehen wir Zunahme, Verharren im Maximum, wieder Abnahme, also den gleichen Ablauf wie bei den vorher beschriebenen Tieren. 2. Nur am 1. Tage werden größere Quantitäten von Linsen verzehrt. Schon am nächsten Tage geht das Tier zu Erbsen über. Diese Periode aber — relativ maximaler Erbsenverbrauch — dauert nicht so lang wie bei den anderen Tieren, sie weicht der Linsenperiode, die mit einer kurzen Abweichung bis zum Tode des Tieres anhält.

Tabelle XXIX.
Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 2 ♀			Menge der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	144	1	2,1	0,0	1,0	3,1
2. II.	—	1	1,3	10,0	0,0	11,3
3. II.	—	1	6,2	10,0	0,0	16,2
4. II.	—	1	9,4	0,0	0,0	9,4
5. II.	—	1	5,0	15,0	0,0	20,0
7. II.	—	2	11,0	23,0	0,0	34,0
9. II.	—	2	8,5	12,4	0,0	20,9
10. II.	—	1	9,2	10,1	0,0	19,3
11. II.	—	1	10,0	10,0	0,0	20,0
12. II.	—	1	6,0	10,0	0,0	16,0
14. II.	—	2	15,5	17,8	0,5	33,8
15. II.	180	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	7,5	13,4	0,0	20,9
24. II.	—	9	5,7	9,0	2,47	17,2
2. III.	—	6	4,9	11,3	3,5	19,7
3. III.	158	—	—	—	—	—
9. III.	—	7	9,0	5,57	2,1	16,67
17. III.	—	8	7,7	—	4,75	—
19. III.	161	—	—	—	—	—
24. III.	—	7	12,3	10,7	4,6	27,6
30. III.	153	—	—	—	—	—
6. IV.	140	—	—	—	—	—
13. IV.	112	—	—	—	—	—
9. IV.	—	16	5,0	6,6	0,8	12,4
18. IV.	†	9	12,0	6,1	0,8	18,9

Tier 2 (Weibchen) weicht im Verbrauch sowohl von Bohnen als auch von Erbsen in quantitativer Beziehung von den vorigen Tieren ab. Trotzdem lassen sich dieselben Perioden, wenn auch verschoben, wieder voneinander abgliedern und es gewinnt hier den Anschein, als ob die

Linsen den höheren Bohnenverbrauch kompensieren würden. 1. In den ersten beiden Tagen verzehrt das Tier ziemlich große Quantitäten von Bohnen, enthält sich ihrer in den zwei nächsten vollständig, nach 4 Tagen jedoch beginnt bereits die Steigerung der Bohnenkurve, die das höchste absolute Maximum von allen anderen entsprechenden Werten erreicht und dieses absolute Maximum auch im Sinken behält. 2. Der relativ maximale Linsenverbrauch dauert länger wie bei den anderen Tieren, die 2. Erbsenperiode tritt spät ein und dauert, da sie gleichzeitig mit der der Mittelwertkurve endigt, weit kürzer als diese. In der 3. Periode verbleibt das Tier mit einer einzigen geringfügigen Abweichung beim höheren Linsenverbrauch.

Tabelle XXX.

Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 2 ♂			Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	142	1	0,8	0,0	1,0	1,8
2. II.	—	1	10,0	6,5	2,5	19,0
3. II.	—	1	9,9	8,2	0,0	18,1
4. II.	—	1	10,4	0,0	0,0	10,4
5. II.	—	1	8,3	8,5	2,5	19,3
7. II.	—	2	28,5	10,4	7,3	46,2
9. II.	—	2	10,7	8,5	4,25	23,4
10. II.	—	1	10,6	5,9	7,5	24,0
11. II.	—	1	10,5	7,9	6,0	24,4
12. II.	—	1	10,0	8,0	8,0	26,0
14. II.	—	2	10,12	12,2	8,0	39,3
15. II.	158	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	10,0	9,5	5,5	25,0
24. II.	—	9	4,7	9,5	2,7	16,9
2. III.	—	6	5,2	14,5	5,8	25,5
3. III.	173	—	—	—	—	—
9. III.	—	6	9,4	13,0	4,5	26,9
17. III.	—	8	10,56	9,1	5,2	24,86
19. III.	168	—	—	—	—	—
24. III.	—	7	17,1	11,7	5,57	34,4
30. III.	135	—	—	—	—	—
6. IV.	132	—	—	—	—	—
13. IV.	132	—	—	—	—	—
20. IV.	122	—	—	—	—	—
28. IV.	—	—	—	—	—	—
9. IV.	—	16	8,2	4,5	2,0	14,7
18. IV.	—	9	11,0	6,2	0,2	17,4
25. VI.	†	7	7,5	9,7	4,0	20,6

Tier 1 (Weibchen) lebt am längsten und zwar um ein Bedeutesendes länger als alle anderen Tiere. 1. Der Bohnenverbrauch ist zu Beginn des Versuches fast gleich Null, insofern als das Tier während 10 Tagen

nur an 5 ganz minimale Quantitäten von Bohnen zu sich nimmt. Der sonstige Verlauf der Bohnenkurve ist der typische. 2. Am 1. Tage des Versuches nehmen Erbsen die erste Stelle ein, werden aber schon am 2. Tage von Linsen abgelöst. Die 2. Periode dauert eine Woche länger als dem Mittelwert entsprechend und wird einmal unterbrochen. Durchaus abweichend ist das Verhalten dieses Tieres von den anderen, in bezug auf das oftmalige Übergehen von dem einen bevorzugten Futter zu dem anderen, ein Vorgang, der sich während seiner Lebenszeit 6 mal vollzieht.

Tabelle XXXI.
Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. 1 ♂			Menge der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
Datum	Gewicht in g	Tage	Linsen	Erbsen	Bohnen	Gesamt
1. II.	122	1	0,4	1,3	0,0	1,7
2. II.	—	1	10,0	1,0	0,0	11,—
3. II.	—	1	9,9	9,2	0,4	19,5
4. II.	—	1	8,0	0,0	0,16	8,2
5. II.	—	1	6,7	11,0	0,0	17,7
7. II.	—	2	15,0	20,5	0,0	35,5
9. II.	—	2	4,2	12,7	0,25	17,1
10. II.	—	1	1,5	13,1	10,9	14,6
11. II.	—	1	6,1	10,0	0,0	16,1
12. II.	—	1	3,9	11,2	0,0	14,2
14. II.	—	2	11,0	16,5	0,8	28,3
15. II.	149	—	—	—	—	—
15. II.	—	1	1,6	10,9	0,0	12,5
24. II.	—	9	1,76	10,0	1,76	13,5
2. III.	—	6	4,8	1,9	5,1	11,8
3. III.	148	—	—	—	—	—
9. III.	—	6	7,85	15,4	4,7	27,95
17. III.	—	8	2,6	8,1	4,87	15,57
19. III.	138	—	—	—	—	—
24. III.	—	7	17,6	12,1	2,1	31,8
30. III.	138	—	—	—	—	—
6. IV.	129	—	—	—	—	—
13. IV.	114	—	—	—	—	—
20. IV.	112	—	—	—	—	—
28. IV.	115	—	—	—	—	—
9. IV.	—	16	3,0	7,6	4,0	14,6
18. IV.	—	9	12,0	3,3	1,0	16,3
25. IV.	—	7	16,4	5,7	2,0	24,1
3. V.	—	8	13,8	6,3	1,3	21,4
13. V.	—	10	16,0	10,4	0,0	26,4
18. V.	—	5	10,0	18,6	0,7	29,3
23. V.	—	5	22,5	6,25	0,0	28,75
11. V.	110	—	—	—	—	—
20. V.	110	—	—	—	—	—
31. V.	—	7	6,3	7,5	0,0	13,8
8. VI.	—	7	13,1	19,4	0,0	32,5
11. VI.	—	7	10,0	3,3	0,0	13,3

Die nächste Frage, die sich nun aufdrängt, ist die nach einem Zusammenhang zwischen Lebensdauer der Tiere und ihrer Nahrungsaufnahme. Aus diesen Versuchen ist sie aber nicht einwandfrei zu beantworten, da noch ein wesentlicher Faktor sicherlich eine mitbestimmende Rolle spielt, und zwar: das Gewicht und damit das Alter der Tiere zu Beginn des Versuches.

Tabelle XXXII.

Auswahlversuch: Bohnen, Erbsen, Linsen.

Anfangsgewicht und Lebensdauer.

Nr. des Tieres	Gewicht in g		Lebensdauer (Tage)		Lebensdauer u. Gewicht	
	♀	♂	♀	♂		
5	174	—	31	—	5394	—
6	—	171	—	66	—	11 286
3	171	—	76	—	(12 996)	—
4	—	144	—	76	—	10 800
2	—	142	—	82	—	11 644
1	122	—	121	—	14 762	—

Aus Tabelle XXXII ist ersichtlich, daß die Tiere um so länger leben, je geringer ihr Gewicht ist, und zwar läßt sich das so weit bestimmen, daß z. B. bei einem Weibchen ein Mehrgewicht von 50% die Lebensdauer auf den 4. Teil herabsetzt, bei den Männchen hingegen Gewicht und Lebensdauer mit sehr großer Annäherung umgekehrt proportional sind. Dies beweist uns, daß die Tiere die Nahrungsaufnahme auch quantitativ regulieren, nicht nur qualitativ, wie wir es bis jetzt ersehen haben. Auf eine nähere Behandlung dieser Frage können wir aber nur dann eingehen, wenn wir Beobachtungen aus ähnlichen Versuchen mit gleichgewichtigen Tieren angestellt besitzen werden.

Daß der biologische Wert der Nahrung auch bei der quantitativen Nahrungsaufnahme eine sehr wichtige Rolle spielt, beweisen folgende Berechnungen. In Tabelle XXXIII ist die insgesamt aufgenommene Nahrung berechnet.

Tabelle XXXIII.

Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. des Tieres	Versuchsdauer	♀ Gesamtverbrauch in g			Gesamt g	♂ Gesamtverbrauch in g			Gesamt g
		Erbsen	Linsen	Bohnen		Linsen	Erbsen	Bohnen	
5	31	249,9	314,2	61,1	625,2	—	—	—	—
6	66	—	—	—	—	507,9	685,0	179,6	1392,5
3	76	579,1	(601,7)	140,8	(1311,6)	—	—	—	—
4	76	—	—	—	—	606,1	(608,3)	158,8	(1245,2)
2	82	—	—	—	—	808,9	713,4	300,2	1822,5
1	131	1333,5	1152,2	237,0	2722,2	—	—	—	—

In Klammer angegebener Wert: fehlt die Nahrungsaufnahme an je 1 Tag.

Es ist ersichtlich, daß sogar das geringste Quantum der von einem Tier in der kürzesten Lebenszeit verbrauchten Bohnen das Gesamtgewicht seiner organischen Körpersubstanz wesentlich übertrifft. In Tabelle XXXIV sind die Mittelwerte der täglich konsumierten Nahrung angegeben.

Tabelle XXXIV.
Auswahlversuch: Bohnen, Erbsen, Linsen.

Nr. des Tieres	Ge- wicht g	♂ mittlere tägl. Nahrungs- mittelaufnahme in g			Gesamt g	♀ mittlere tägl. Nahrungs- mittelaufnahme in g			Gesamt g
		Linsen	Erbsen	Bohnen		Linsen	Erbsen	Bohnen	
5	174	8.06	10.1	1.97	20,17	—	—	—	—
6	171	—	—	—	—	7.69	10.4	2.7	20,8
3	171	7.6	8.0	1.8	17,4	—	—	—	—
4	144	—	—	—	—	8.0	8.1	2.1	18,1
2	144	—	—	—	—	9,86	8.7	3,6	22,2
1	122	10.16	8.9	1.8	20,9	—	—	—	—

Man sieht, daß die Verhältniszahl Linsen zu Erbsen proportional zur Lebensdauer der Tiere wächst. Im Bohnenverbrauch und seiner Stellung zur Gesamtnahrung können wir keine Gesetzmäßigkeit finden, keine einfachen quantitativen Zusammenhänge, weder zur Lebensdauer noch zum Körpergewicht. Hingegen findet eine nahezu unmittelbare Gesetzmäßigkeit ihren mathematischen Ausdruck in dem Lebenswert der Nahrung. Zur Aufstellung dieses Wertes führten die Versuche mit einseitiger Ernährung, und zwar von der Annahme aus, daß jedes Gramm eines Nahrungsmittels einen zur Lebensdauer proportionalen Wert bedeutet. Eine Einschränkung kann diese Annahme möglicherweise dadurch erfahren, daß die einseitig ernährten Tiere verschiedene Quantitäten der einzelnen Nahrungsmittel verzehrt haben, nur wäre die Wirkung dieses Faktors nicht von bestimmender Bedeutung. Es wird diesbezüglich zwischen Linsen und Erbsen einerseits, andererseits zwischen Bohnen ein Unterschied vorhanden sein, da die Tiere nur geringe Quantitäten von Bohnen verzehren, wenn sie einseitig damit ernährt werden. Aber die Bohnen kommen auch beim Auswahlversuch als Nahrungsbestandteil nur wenig in Betracht, während der Unterschied zwischen Linsen und Erbsen kein wesentlicher ist. Wenn wir den Lebenswert mit L_w , die einzelnen täglich verbrauchten Mengen von Bohnen, Erbsen und Linsen mit M und Index, die Lebensdauer der einseitig ernährten Tiere mit D bezeichnen, und je nachdem Menge oder Lebensdauer sich auf Bohnen, Erbsen oder Linsen bezieht, deren Anfangsbuchstaben als Indices zusetzen, die tägliche Summe aller Lebenswerte mit Σ bezeichnen, erhalten wir folgende Zusammenhänge:

$$L_{wb} = L_b \cdot M_b$$

$$L_{we} = L_e \cdot M_e$$

$$L_{wi} = L_i \cdot M_i$$

$$\Sigma = L_{wb} + L_{we} + L_{wi} = L_b M_b + L_e M_e + L_i M_i.$$

Diese Werte sind alle in Tabelle XXXV angegeben.

Tabelle XXXV.

Auswahlversuch: Linsen, Erbsen, Bohnen.

Nr. des Tieres	Mittlere tägliche Nahrungsaufnahme und Lebens- dauer der einseitig gefütterten Tiere						Σ		Lebenserhaltungs- wert von 1 g Nahrung	
	♀			♂						
	Linsen	Erbsen	Bohnen	Linsen	Erbsen	Bohnen	♀	♂	♀	♂
5	1255,1	1454,4	9,85	—	—	—	2719,8	—	134,6	—
6	—	—	—	2132,9	600,8	13,5	—	2747,2	—	132,0
3	1123,0	1152,0	9,0	—	—	—	2284,0	—	131,3	—
4	—	—	—	2200,0	461,7	10,5	—	2672,2	—	147,0
2	—	—	—	2722,2	495,9	18,0	—	3231,1	—	146,0
1	1574,8	1292,6	9,0	—	—	—	2876,4	—	137,6	—

Zunächst können wir unter den hier beschriebenen Tieren gar keinen Zusammenhang auffinden. Sowohl die Einzel- wie die Gesamtwerte differieren in ziemlich großem Maße untereinander. Die maximale Abweichung zwischen den Σ -Werten beträgt 41%. Ganz anders aber wird es, wenn wir die Σ -Werte durch die tägliche mittlere Nahrungsaufnahme dividieren. Wir erhalten dann nämlich einen konstanten Wert $\Sigma/N = K$. Diese Konstante sagt an, daß die Tiere im Mittel in einem Gramm Nahrung immer denselben Lebenserhaltungswert aufnehmen. Die maximale Abweichung beträgt 12%, welche Zahl durch die Summe aller möglichen in Betracht kommenden Fehler gedeckt wird. Als Fehlerquellen gewinnt der Umstand die größte Bedeutung, daß die Lebensdauer bei einseitiger Ernährung doch nicht genügend genau bestimmt wird, da immer nur ein Paar zum Versuch verwendet wurde.

Mehle der Leguminosen. Bei diesen Versuchen geben wir hier nur den qualitativen Gang der Nahrungsaufnahme wieder, der die Ergebnisse der vorherigen Versuche vollauf bestätigt. Auf den quantitativen Vergleich dieser 3 Versuche werden wir an anderer Stelle näher eingehen.

1. Rohe Leguminosenmehle. Die schon beschriebene Versuchsanordnung wurde unverändert benützt. 6 Tiere erhielten die 3 Leguminosenmehle in gewogenen Mengen zur Auswahl vorgelegt. Beim Zurückwägen konnten die Fehler, die durch das Ausstreuen des Futters von seiten der Tiere entstanden, nicht vermieden werden. Sie kommen aber der Menge nach überhaupt nicht in Betracht, wovon wir uns öfters

überzeugt haben. Der qualitative Ablauf des Versuches deckt sich vollkommen mit dem im Versuch mit den ganzen Samen beobachteten. Die wichtigsten Erscheinungen sind folgende:

1. Der Verbrauch von Bohnen ist wieder im Vergleich zu dem der anderen Leguminosen sehr gering, auch die feineren Schwankungen der Bohnenkurve sind den früheren ähnlich. Der Verbrauch der Bohnen ist im Anfang relativ hoch, nimmt langsam noch zu, sein Maximum fällt fast genau in dieselbe Zeit wie im früheren Versuch.

2. Der Verbrauch an Linsen ist im Versuchsanfang bedeutend größer als an Erbsen. Späterhin geben die Tiere den Erbsen den Vorzug, so daß eine kurze Zeit hindurch übereinstimmend mit dem ersten Versuch der Verbrauch von Erbsen größer ist als der von Linsen. Nur dauert dieser Zeitraum viel kürzer als im Vergleichsversuch, eine Verschiebung, für die wir in den menschlichen Verhältnissen eine Analogie sehen, bei denen die ganzen Erbsen auch mehr Anklang finden als ihr Mehl, das durch den Mahlprozeß einen bitteren Geschmack bekommt. (Auf diese Erscheinung werden wir noch zurückkommen.) Demnach hätte es also den Anschein, als ob weitere Vergleichsmöglichkeiten für den Geschmack von Mensch und Versuchsratte vorhanden wären.

3. An diese kurze 2. Periode schließt sich wieder ein Zeitraum, in dem die Vorliebe für Linsen vorherrscht, Erbsen zurückgesetzt, Bohnen minimal verzehrt werden, kurz, der Instinkt uneingeschränkt waltend die Tiere ihre Nahrung nach deren biologischem Wert wählen läßt und somit der Periode in diesem Versuch dasselbe Gepräge gibt, wie dem Versuche mit ganzen Samen.

2. Hitzeinaktivierte Leguminosenmehle. Unbeeinflußt von den Veränderungen, die mit den Bohnen vorgenommen wurden, sehen wir sie im Verbrauch an letzter Stelle stehen. Das Maximum ist nicht so deutlich ausgesprochen, wie in den Versuchen 1 und 2 nach entsprechender Zeit. 2. Der Verbrauch von Linsen ist in den ersten Tagen größer wie der von Erbsenmehl, sinkt dann zugunsten des letzteren, welche Periode viel länger dauert als bei den rohen Mehlen. Hierzu sei bemerkt, daß das hitzeinaktivierte Erbsenmehl keinen bitteren Geschmack aufweist, überdies dieses Verfahren die Unterschiede in der biologischen Qualität zwischen Erbsen und Linsen verwischt, da die Tiere von hitzeinaktivierten Erbsen länger als von rohen Erbsen leben. von den präparierten Linsen sahen wir hingegen das Männchen früher sterben. Es folgt die 3. Periode, die die Charakteristica des 1. und 2. Versuchs im selben Maße aufweist. Dem Verbrauche nach geordnet kommen an erster Stelle Linsen, Erbsen und zuletzt Bohnen. Diese 2 Versuche erbringen eine vollkommene Ergänzung und Bestätigung des genauer behandelten 1. Versuches in qualitativer Hinsicht, auf einen quantitativen Vergleich werden wir an anderer Stelle eingehen.

Aus den eben beschriebenen Versuchen können wir folgendes ableiten: 1. Die Ratten mit Linsen, Erbsen, Bohnen ernährt, wählen ihre Nahrung in ganz typischer Weise. 2. Die Tiere fressen nicht nur von einem Nahrungsmittel, auch dann nicht, wenn dieses allein verzehrt, ihr Leben am längsten fristen würde. 3. Zu Beginn des Versuches, insbesondere aber dann, wenn sie infolge der langen einseitigen Versuchsnahrung in Lebensgefahr geraten, wählen die Tiere das biologisch beste Nahrungsmittel, nämlich jenes, von dem allein genährt sie am längsten leben würden. 4. Die Tiere trachten in ihre Ernährung Abwechslung zu bringen. 5. Es ergibt sich im Verlauf des Versuches Gewöhnung an ein Nahrungsmittel, das im Anfang verschmäht wurde. 6. Der Ablauf dieser Gewöhnung ist ein ganz typischer. 7. Die Tiere nehmen im Mittel in jedem Gramm Nahrung denselben Lebenswert zur Erhaltung des Lebens auf, wenn auch dieser berechnete Lebenswert kleiner ist als der der optimal befundenen Nahrung entsprechende.

Die instinktmäßige Auswahl erweist sich nach den Beobachtungen in diesen Versuchen bis zu einem gewissen Grade als zweckmäßig, wenn wir als Ziel für die Triebssicherheit die Erstreckung des Lebens auf eine möglichst lange Zeit hinaus ansehen wollen. Es besteht ja die Möglichkeit, daß die instinktive Auswahl nicht nur auf die möglichst lange Lebenserhaltung gerichtet ist, sondern auch auf Wachstum (Osborne und Mendel), Muskelkraft usw. Die Gewichtszunahmen scheinen dafür zu sprechen, indem die mit allen 3 Leguminosenarten gefütterten Tiere viel mehr zunehmen als die einseitig genährten. Die hier angeführten Versuche, genügen aber nicht diese Fragen endgültig zu klären. Auf Grund eines größeren Versuchsmateriales werden sie an anderer Stelle eingehend behandelt. Wir können aber aus diesen Versuchen einen sehr empfindlichen Indikator für die Wertung unserer Nahrungsmittel überhaupt gewinnen, unabhängig von den vielen Vorurteilen, mit denen das menschliche Geschmacksurteil behaftet ist. Um zur Klärung solcher Erscheinungen beizutragen, habe ich die Untersuchungen auch auf solche Nahrungsmittel ausgedehnt, deren biologischen Wert zu bestimmen auf so einfache Weise nicht möglich war. Denn unstreitbar ist das große theoretische und auch praktische Interesse, das der Versuch verdient, eine Gesetzmäßigkeit in der Nahrungsauswahl zu finden.

Brotgetreidearten ¹⁾.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

Wir haben mit den verschiedenen Brotgetreidearten ebensolche vergleichende Versuche ausgeführt wie mit den Leguminosen, d. h. einerseits die Tiere einseitig ernährt und andererseits ihnen die verschiedenen Cerealien zur Auswahl vorgelegt, und zwar teils in Form von Körnern teils als Mehle. Diesen Versuchen — mit einseitiger Ernährung — stellen sich in der Bewertung größere Schwierigkeiten entgegen als den Leguminosenversuchen. Der Eiweißgehalt der Cerealien ist zu gering, um als ausschließliche Eiweißquelle genügend ergiebig zu sein (Osborne und Mendel, McCollum) und die Differenzen in der Wirkung viel unbedeutender als bei den Leguminosen, Umstände, die die Prägnanz der Beobachtungen so weit beeinträchtigen, daß ich von ihrer Publikation vorläufig absehe. Hingegen ergaben die Auswahlversuche so überraschend interessante und verwertbare Resultate, daß ich einige ausgewählte Beispiele schon jetzt mitteilen möchte.

1. Vergleichender Auswahlversuch mit Weizen, Roggen und Maiskörnern. Diese 3 Getreidearten wurden 6 Tieren, 3 Männchen und 3 Weibchen, zur Auswahl vorgelegt. Aus Tabelle I, in der die Mittelwerte des Nahrungsverbrauchs aller 6 Tiere verzeichnet sind, ersehen wir wieder eine ganz charakteristische Veränderung der Nahrungsauswahl.

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig und St. Deutsch ausgeführt.

Tabelle XXXVI.
Auswahlversuch: Mais-, Roggen-, Weizenkörner.

Datum	Mittleres Gewicht der Tiere g	Länge der Periode	Mittlere Mengen der von allen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Bemerkungen
			Mais	Roggen	Weizen	Gesamt	
17. II.	161	1	7,55	5,5	10,0	21,8	
18. II.	—	1	8,3	2,9	6,4	17,6	
19. II.	—	1	8,6	2,6	6,4	17,6	
20. II.	—	1	8,2	5,9	8,1	22,2	
22. II.	—	2	6,8	5,1	5,1	17,0	
23. II.	157	1	7,8	3,9	4,4	16,1	
24. II.	—	1	7,5	3,5	7,8	18,8	
4. III.	—	8	11,6	3,4	6,2	21,2	Am 4. III. Tier 3 ♂ gest.
12. III.	140	—	—	—	—	—	
18. III.	—	14	9,1	2,9	4,75	16,75	
19. III.	132	—	—	—	—	—	
2. IV.	—	15	4,06	4,08	8,25	10,4	
6. IV.	114	—	—	—	—	—	
13. IV.	114	—	—	—	—	—	Am 15. IV. Tier 5 ♂ gest.
16. IV.	—	14	2,1	3,2	5,0	10,3	
20. IV.	113	—	—	—	—	—	
22. IV.	—	6	3,3	1,3	5,0	9,6	
29. IV.	115	7	0,9	3,9	5,3	10,2	
11. V.	120	12	3,6	5,4	6,9	15,9	
20. V.	117	—	—	—	—	—	
22. V.	—	11	3,0	3,6	3,8	10,4	
30. V.	127,5	—	—	—	—	—	
3. VI.	—	13	2,9	3,35	9,55	15,8	
10. VI.	125	—	—	—	—	—	
15. VI.	—	12	5,0	5,0	6,25	16,25	
18. VI.	126,5	—	—	—	—	—	
22. VI.	—	7	9,6	—	12,6	22,2	Die Tiere haben nur Weizen u. Mais erhalten
29. VI.	—	7	9,25	—	12,5	21,75	
27. VII.	—	28	15,9	2,2	2,4	20,5	Die Tiere bekamen Weizen-, Rogg-, Maismehl
28. VII.	126,5	—	—	—	—	—	

Demnach kann die ganze Versuchszeit zwanglos in 2 Perioden geteilt werden, eine erste mit der Dauer von einem, eine zweite mit der Dauer von 3 Monaten. Obwohl gerade in der Übergangsperiode nur in einem Intervall von 15 Tagen die Rückwägung vorgenommen wurde und daher die Grenzen zwischen den Zeiträumen nicht scharf zu ziehen sind, kommt dieser Fehler infolge der relativen Länge der Perioden nicht so sehr in Betracht. Die beiden Perioden unterscheiden sich voneinander in folgenden Punkten:

1. In der ersten Periode ist der Gesamtnahrungsverbrauch bedeutend größer als in der zweiten. In der ersten Periode ist das Minimum der täglichen Nahrung 16,1 g das Maximum 22,2 g. In der zweiten Periode ist das Minimum der täglichen Nahrung 9,6 g, das Maximum 16,25 g. Das Maximum der zweiten Periode erreicht also eben das Minimum der ersten.

2. In der ersten Periode fressen die Tiere am wenigsten Roggen, nur ein paar Tage hindurch erreicht der Roggenverbrauch die Höhe von dem des Weizens, der an zweiter Stelle steht.

3. Mais steht im Konsum an erster Stelle, und zwar den Weizen bedeutend überragend. Eine Ausnahme tritt bloß 2 mal ein, zunächst am 1. Versuchstag und noch an einem Tag, aber nur um einige Zehntel Gramm höher als Mais.

4. In der zweiten Periode sinkt der Maisverbrauch auf das relative Minimum, nachdem er während der Übergangszeit mit dem an zweiter Stelle stehenden Roggen gleiche Höhe hatte. Den letzteren übertrifft er während der folgenden Zeit nur etwa 6 Tage lang.

5. Der Weizenverbrauch steht in der zweiten Periode ausnahmslos am höchsten.

6. In der ersten Periode verlieren die Tiere binnen 30 Tagen 9 g, und zwar vollzieht sich der Gewichtssturz vornehmlich zu Beginn des Versuches und ist beim Einsetzen der zweiten Periode so weit ausgeglichen, daß das mittlere Gewicht wieder annähernd erreicht wird. Daß nicht das sukzessive Absterben einzelner Tiere die Mittelwerte so weit verschiebt, beweisen die zur Feststellung dieser Verhältnisse angestellten Versuche. 1. Wenn die 2 überlebenden Weibchen nur mit Mais und Weizen gefüttert werden, steigt die Nahrungsaufnahme bis zum Maximum der früheren Werte und übertrifft es sogar. Es nehmen sowohl Weizen wie Maisverbrauch zu, der letztere unverhältnismäßig mehr wie der des Weizens, ohne ihn aber zu erreichen. Der Roggen verursacht also nur die geringere Aufnahme der gesamten Nahrung, es ist aber nicht seinem Einfluß zuzuschreiben, daß der Weizenverbrauch den des Maises übersteigt. 2. In einer folgenden Periode haben wir die Tiere mit den den 3 Körnerarten entsprechenden Mehlen gefüttert (auf das Verhältnis von Körnern zu ihren Mehlen werden wir noch wiederholt zu sprechen kommen). Infolge dieser Änderung sehen wir ein nur unbedeutendes Sinken des Gesamtverbrauches, hingegen den Konsum an Maismehl 7 mal so groß wie den des Weizenmehles werden, der seinerseits kaum größer ist als der von Roggenmehl. Wenn auch für diese Erscheinungen vorläufig keine Erklärung gegeben werden kann, erkennt man doch mit zwingender Notwendigkeit, daß ihre Ursache in einer minimalen Veränderung der Nahrung liegt. Dafür spricht: 1. Wenn mehrere Nahrungsmittel gegeben werden, kann bei ständiger Nahrung eines die im ganzen aufgenommene Futtermenge bedeutend herabdrücken, wobei dieser Nahrungsbestandteil selbst nur in der geringsten Menge verbraucht wird. Wenn dieser Futteranteil ausfällt, wird nicht die Gesamtmenge vermehrt, sondern er selbst durch die beiden mitbenützten Nahrungsmittel quantitativ überkompensiert. Diese Erscheinung kommt aber nur nach langdauernder einseitiger

Ernährung zur Beobachtung, denn während des ersten Monates des Versuches haben wir trotz der Anwesenheit des Roggens auch eine hohe Gesamtmenge zu verzeichnen gehabt. 2. Infolge des Mahlens der Cerealien wird die Reihenfolge im Verbrauch von Mais und Weizen umgekehrt, und zwar derart daß die konsumierte Maismenge wenigstens verdoppelt, der Weizenverbrauch hingegen auf den 5. Teil heruntergedrückt wird. Dieser Versuch beweist einwandfrei, daß bei diesen Rattenversuchen ganz bestimmte Gesetze die Nahrungsauswahl regeln, daß somit mit Hilfe von relativ einfachen Versuchen solche Gesetze einer Analyse unterzogen werden können. Hier sei noch darauf verwiesen, daß der bedeutende Minderverbrauch von Weizenmehl in dieser Zeit im Vergleich zu dem der ersten Periode, der Minderverbrauch von

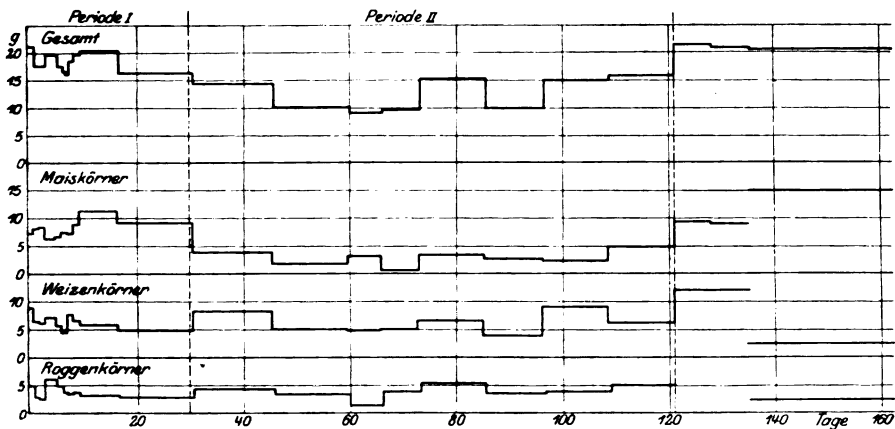


Diagramm I. Auswahlversuch: Mals, Weizen, Roggen.

Roggenmehl gegenüber dem Konsum während der ersten und zweiten Periode durch den Maismehlbedarf kompensiert wird. Dieses Verhalten wird noch auffallender, wenn wir in Betracht ziehen, daß die Tiere von den ganzen Maiskörnern nur den Keim und die angrenzenden Teile fressen, das Mehl aber von entkeimten Körnern bereitet wird. Daraus gewinnt man also keine Stütze für die verlockende Annahme, daß die biologisch wertvollen Keimgewebe es sind, die von den Tieren bevorzugt werden, sondern eher den Eindruck, daß die Konsistenz von großem Einfluß ist und zwar der ganz harte Anteil des Kornes vermieden wird. Zweifellos stellt uns die Beobachtung vor die Alternative, daß entweder Mais durch den Mahlprozeß verbessert oder aber Weizen und Roggen verschlechtert werden.

In folgendem soll nun der Nahrungsbedarf der einzelnen Tiere, M. und W. der Übersichtlichkeit halber getrennt behandelt, angeführt werden.

Tabelle XXXVII. Auswahlversuch: Mais, Roggen, Weizen (als Körner).
(Weibchen.)

Datum	Tier 2				Tier 4				Tier 6						
	Gewicht g	Mais	Roggen	Weizen	Gesamt	Gewicht g	Mais	Roggen	Weizen	Gesamt	Gewicht g	Mais	Roggen	Weizen	Gesamt
16. II.	97	—	9,8	2,5	9,9	92,2	—	4,0	4,0	—	119	—	—	—	—
17. II.	—	5,0	2,3	3,5	10,8	—	9,9	3,0	1,0	13,5	—	—	—	—	—
18. II.	—	7,3	6,5	2,5	16,3	—	7,5	0,2	6,3	14,0	—	—	—	—	—
20. II.	—	9,8	5,9	0,9	16,5	—	4,1	9,5	10,0	23,7	—	—	—	—	—
22. II.	—	10,0	4,0	0,0	14,0	—	0,4	9,0	1,3	10,7	—	—	—	—	—
23. II.	98	8,0	4,8	1,0	13,8	—	6,1	6,0	2,0	14,1	—	—	—	—	—
24. II.	—	6,8	5,8	0,1	12,7	118	10,0	5,3	8,8	24,1	104	7,3	2,3	9,0	18,6
4. III.	—	12,7	2,0	1,9	16,6	—	7,6	6,5	3,1	17,1	—	—	—	—	—
12. III.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. III.	—	11,0	4,0	—	—	—	7,0	3,3	2,1	12,4	—	—	—	—	—
19. III.	103	—	—	—	—	131	—	—	—	—	123	—	—	—	—
30. III.	103	—	—	—	—	138	—	—	—	—	128	—	—	—	—
2. IV.	—	6,0	6,0	7,0	19,0	—	2,0	5,4	7,0	14,4	—	—	—	—	—
6. IV.	104	—	—	—	—	126	—	—	—	—	124	—	—	—	—
13. IV.	104	—	—	—	—	124	—	—	—	—	122	—	—	—	—
16. IV.	—	1,0	3,0	6,5	10,5	—	3,5	4,3	3,5	11,3	—	—	—	—	—
20. IV.	—	—	—	—	—	104	—	—	—	—	114	—	—	—	—
22. IV.	—	0,0	0,5	5,0	5,5	—	4,0	2,7	1,0	6,8	—	—	—	—	—
29. IV.	110	0,0	4,3	5,0	9,3	120	2,9	5,3	3,1	11,9	115	6,0	2,1	7,9	10,0
11. V.	130	1,7	5,9	5,4	13,0	110	7,5	5,3	6,5	19,3	—	—	—	—	—
20. V.	130	—	—	—	—	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22. V.	—	2,7	4,0	3,2	9,9	—	3,6	2,7	3,7	10,0	—	—	—	—	—
30. V.	135	—	—	—	—	120	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3. VI.	—	2,5	2,5	10,8	15,8	—	3,3	4,2	8,3	15,8	—	—	—	—	—
10. VI.	120	—	—	—	—	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	2,5	4,2	7,2	14,2	—	7,5	5,8	5,0	18,3	—	—	—	—	—
18. VI.	123	—	—	—	—	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—
22. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
29. VI.	129	13,6	—	15,1	28,7	—	10,6	—	10,1	20,7	—	—	—	—	—
19. VII.	127	7,1	—	16,4	23,5	129	11,4	—	8,6	20,0	—	—	—	—	—
27. VII.	—	—	—	—	—	132	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28. VII.	137	11,7	2,1	2,5	16,3	130	20,1	2,3	2,3	24,7	—	—	—	—	—

*) Am 22. V. wurde das Tier für einen anderen Versuch verwendet.

*) Am 22. V. wurde das Tier für einen anderen Versuch verwendet.

Am 1. Tag übertrifft bei allen Weibchen der Weizenkonsum den des Maises, darauf folgt eine Zeit des höchsten Maisverbrauches, Roggen wird durchwegs weniger verbraucht als Mais, jedoch hat die in Tabelle I gefundene Gesetzmäßigkeit in bezug auf den minimalen Roggenverbrauch für die Weibchen keine Gültigkeit, die abwechselnd das eine Mal mehr Roggen, das andere Mal mehr Weizen fressen. Der höhere Maisverbrauch geht parallel mit einer höheren Aufnahme von Gesamtfutter, das in der folgenden Periode ziemlich gleichmäßig abnimmt. Die einzelnen Tiere verharren in dieser Periode verschieden lang, die ersten beiden Tiere je 30 Tage, das dritte bloß 7 Tage lang. Dieses letztere zeigt auch insofern eine Ungesetzmäßigkeit, als es innerhalb dieses Zeitabschnittes noch einmal zu Mais als Vorzugsnahrung übergeht und Weizen hintanstellt. Die zweite Periode verläuft beim 2. Tiere gleichmäßig, entspricht der Mittelwertskurve, indem das Tier am meisten Weizen, am wenigsten Mais zu sich nimmt. Das 6. Tier zeigt, von einer einzigen Ausnahme abgesehen, dasselbe Verhalten. Das 4. Tier sehen wir öfters zu Mais zurückkehren, und zwar wechselt es im ganzen 4 mal zwischen Mais und Weizen als bevorzugter Nahrung. Bei beiden Tieren sehen wir gleichzeitig mit dem Entfallen des Roggens die Gesamtfutterraufnahme steigen. Diese ist größer bei Tier 2, bei dem wir auch den größeren Weizenverbrauch beobachten, als bei Tier 1, welches den Mais vorzieht. Beide Tiere reagieren in noch größerer Gleichmäßigkeit auf vorgesetzte Mehlnahrung. Roggen und Weizen stehen dem Verbrauch nach auf dem gleichen Niveau, während der Wert für Mais plötzlich steigt, und zwar höher beim Tier 4, das schon vorher mehr Mais gefressen hat, als beim Tier 6.

Die Männchen verhalten sich ähnlich wie die Weibchen. Zu Beginn des Versuches steht im Verbrauch an erster Stelle Weizen, es folgt sodann Mais und unter dem rangiert der Roggen. Diese Reihenfolge sehen wir länger festgehalten als bei den Weibchen, denen sich nur das Tier 3 in seinem Verhalten nähert. Tier 5 frißt 2 Tage vorzugsweise Weizen, Tier 1 sogar 5 Tage hindurch. Es ist bemerkenswert, daß, obwohl in dieser Zeit die Gesamtaufnahme an Nahrung sehr hoch ist, das Tier einen schwachen Gewichtsverlust zeigt, der sich in der zweiten Periode innerhalb eines Monats bei hoher Gesamtnahrungsaufnahme mit höchstem Maisverbrauch bedeutend verstärkt. Alle 3 Tiere verfallen nach dieser Periode des überragenden Maisverbrauches in eine solche der Weizennahrung. So verläuft die Kurve bei den Männchen ganz typisch, noch regelmäßiger als bei den Weibchen. Das Verhalten der Männchen in bezug auf die Nahrungsaufnahme wird am deutlichsten dadurch charakterisiert, daß sie den Roggen beständig viel entschiedener zurücksetzen als die Weibchen und auf diese Weise die Werte der Mittelwertskurve erniedrigen. An der Stelle wollen wir nicht auf quantitative

Tabelle XXXVIII.
Auswahlversuch: Mais, Roggen, Weizen (als Körner).
(Männchen.)

Datum	Tier 1					Tier 3					Tier 5				
	Gewicht	Aufgenommene Nahrung in g				Gewicht	Aufgenommene Nahrung in g				Gewicht	Aufgenommene Nahrung in g			
		Mais	Roggen	Weizen	Gesamt		Mais	Roggen	Weizen	Gesamt		Mais	Roggen	Weizen	Gesamt
16. II.	203	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
17. II.	—	7,5	5,5	10,0	23,0	—	9,2	7,8	10,0	27,0	164	5,7	4,0	9,6	19,3
18. II.	—	9,0	6,5	10,0	25,5	—	9,4	1,2	8,8	19,4	—	8,5	1,5	9,0	19,0
19. II.	—	10,0	2,5	10,0	22,5	—	10,0	1,8	4,5	16,3	—	10,0	0,0	8,0	18,0
21. II.	—	10,0	5,6	10,0	25,6	—	10,0	5,0	5,7	20,7	—	10,0	1,5	8,6	20,1
22. II.	—	10,0	4,3	9,8	24,1	—	9,5	1,0	6,0	16,5	—	10,0	6,1	9,6	25,7
23. II.	194	10,0	2,0	9,8	21,8	175	10,0	2,0	3,4	15,4	154	10,0	2,5	10,0	22,5
24. II.	—	10,0	4,5	10,0	24,5	—	9,9	0,7	9,1	19,7	—	10,0	2,6	10,0	22,6
4. III.	—	16,6	0,5	6,0	23,0	—	6,9	5,3	7,1	19,3**)	—	10,0	1,45	6,7	18,1
12. III.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. III.	—	10,0	2,5	5,0	17,5	—	—	—	—	—	—	8,7	1,9	9,0	19,6
19. III.	170	—	—	—	—	—	—	—	—	—	143	—	—	—	—
30. III.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2. IV.	—	4,9	1,3	11,0	17,5*)	—	—	—	—	—	133***)	4,4	1,3	5,0	10,7
6. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	122	—	—	—	—
13. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	107	—	—	—	—
14. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	3,0	3,4	6,0	12,4†)

*) Nur für 30. III., da dann Tier 1 für die andern Versuche verwendet wurde.

**) Tier 3 ist am 4. III. gestorben.

***) Am 30. III. gewogen. †) Tier 5 ist am 15. IV. gestorben.

Regelmäßigkeiten in der Nahrungsaufnahme eingehen, hingegen auf eine andere augenfällige Tatsache verweisen: die Sterblichkeit der Männchen in diesem Versuch. Von den 3 Männchen starben 2 in ziemlich frühen Stadien des Versuches. Das dritte wurde dann für andere Zwecke verwendet. 2 Weibchen überlebten die Männchen um 3 Monate. Der Versuch wurde erst viel später bei voller Gesundheit der beiden Weibchen abgebrochen.

Auf Grund dieses Versuches kommt man zu der Beobachtung, daß die Ratten Unterschiede zwischen den Brotgetreidearten machen und sie je nach der vorangegangenen Nahrung verschieden werten. Auffallenderweise geben die Tiere bei langdauernder Versuchsfütterung dem Weizen den Vorzug vor Mais, sie schätzen aber unter allen Umständen das Maismehl höher als Weizen- und Roggenmehl.

Wir haben bis jetzt in der Wissenschaft alle Cerealien im gleichen Maße gewertet, höchstens dem Weizen wegen der speziellen physikalischen Wirkungen des Klebers eine besondere Stelle eingeräumt. Dagegen hat der Mensch rein empirisch die verschiedenen Getreidearten sehr verschieden beurteilt, mit welcher Berechtigung, zeigt der vorher beschriebene Versuch, der ergibt, daß zwischen den chemisch so nahestehenden Cerealien wesentliche biologische Unterschiede bestehen.

b) Weizen, Roggen, Gerste.

In diesem Versuche haben wir Mehle benützt, wie sie zum Brotbacken verwendet werden, nämlich in einer Ausmahlung von 75–85%. In Tabelle IV sind die Mittelwerte der konsumierten Nahrung von 6 Tieren (3 Männchen und 3 Weibchen) angeführt.

Aus dieser Tabelle (S. 278) ersehen wir die augenfällige Gliederung in der Nahrungsaufnahme je nach ihren am meisten verbrauchten Komponenten in 3 Abschnitten: 1. Gerstenperiode,
2. Roggenperiode,
3. Weizenperiode.

Diese Beobachtung bringt den Gedanken nahe, daß beim Menschen historisch betrachtet dieselbe zeitliche Aufeinanderfolge der bevorzugten Cerealien stattgefunden hat. Noch Griechen und Römer verwendeten als Brotgetreide hauptsächlich Gerste¹⁾, die später vom Roggen verdrängt wurde, den wir nun seinerseits langsam aber sicher dem Weizen weichen sehen. Chemische Ursachen können wir für diese Umwertung nicht anführen. Für die Verwendung des Weizens spricht sein hoher Klebergehalt, kein besonderer biologischer Wert, auf den jetzt der ansehnliche Mehilverbrauch von seiten der Tiere hinweist.

¹⁾ Noch Karl der I. von England hat es verboten, daß „gemeine Leute“ anderes als Gerstenbrot bereiten sollen.

Tabelle XXXIX.

Auswahlversuch: Weizen, Roggen, Gerste (als Körner).

Datum	Gewicht g	Dauer der Fütterungs- periode	Nahrungsaufnahmen in g				Bemerkungen
			Weizen	Roggen	Gerste	Gesamt	
5. II.	154,7	1	3,8	7,2	7,5	18,5	
7. II.	—	2	8,3	10,0	10,0	28,3	
8. II.	—	1	4,7	5,9	8,3	18,9	
9. II.	—	1	5,9	6,0	8,6	18,8	
10. II.	—	1	7,7	8,1	8,2	23,3	
11. II.	—	1	2,5	6,2	7,7	16,4	
12. II.	—	1	3,2	7,4	8,0	19,6	
14. II.	—	2	4,1	8,1	7,2	19,4	
15. II.	167,5	1	2,7	8,6	7,8	18,9	
22. II.	168,5	—	—	—	—	—	
23. II.	—	8	3,9	6,5	7,8	20,3	
1. III.	—	6	3,4	9,9	5,7	19,0	
3. III.	149	—	—	—	—	—	
8. III.	—	7	4,3	8,5	5,7	18,5	
12. III.	167	—	—	—	—	—	16. III. Tier 2 ♂ gestorb.
22. III.	—	14	7,4	9,7	5,9	23,0	
30. III.	160,3	—	—	—	—	—	
1. VI.	—	10	12,4	3,9	2,9	19,3	
5. IV.	—	4	12,6	6,3	1,6	19,9	
6. IV.	165	—	—	—	—	—	11. IV. Tier 5 ♂ gestorb.
13. IV.	150	—	7,2	2,5	1,7	11,4	
20. IV.	130	15	10,5	3,5	1,3	16,3	22. IV. Tier 3 ♂ gestorb.
27. IV.	—	7	8,2	2,7	0,3	11,2	24. IV. Tier 4 ♂ gestorb.
4. V.	—	7	20,7	2,1	1,0	23,8	25. IV. Tier 6 ♂ gestorb.
11. V.	180	7	—	—	—	—	
13. V.	—	9	17	0,0	1,9	18,9	
20. V.	180	7	17,8	2,2	0,0	20,0	
30. V.	180	—	—	—	—	—	
31. V.	—	11	14,5	0,5	0,0	15,0	
10. VI.	150	—	—	—	—	—	
16. VI.	—	16	14,7	2,2	0,0	16,9	
23. VI.	147	7	16,4	0,7	1,4	18,5	
30. VI.	153	—	—	—	—	—	
8. VII.	125	—	—	—	—	—	
11. VII.	—	18	12,8	1,7	1,8	16,3	
18. VII.	125	—	—	—	—	—	
21. VII.	108	10	16,0	2,8	4,6	23,4	21. VII. Tier 1 ♂ gestorb.

Die Länge der Perioden ist in unserem Versuche sehr verschieden. Die erste, Gerstenperiode, dauert 8 Tage, die zweite, Roggenperiode, 38 Tage, die dritte, Weizenperiode, ist am längsten und erstreckt sich maximal über 122 Tage. Die meisten Tiere sterben in der ersten Hälfte dieses Zeitraumes [1 Tier ist schon während des 2. Abschnittes (Roggenperiode) verendet], so daß sich die später angeführten Beobachtungen zum Schluß bloß auf ein Tier beschränken. In Tabelle V sind die Werte der dritten Periode wiedergegeben.

Tabelle XL.

Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.

Länge der Weizenperiode bei den einzelnen Tieren.

Nr. des Tieres	Tage		Anfangsgewicht in g	
	♀	♂	♀	♂
1	120	—	166	—
2	—	—	—	154
3	28	—	127	—
4	—	24	—	172
5	17	—	197	—
6	—	35	—	112

Daraus ist ersichtlich, daß die Länge der Weizenperiode bei 2 Männchen und 1 Weibchen ziemlich gleichlang ist: 24, 28, 35 Tage. Ein Weibchen stirbt viel früher, eines viel später als die übrigen Tiere. Die Länge dieses Zeitabschnittes ist unabhängig vom Anfangsgewicht der Tiere, im Gegensatz zu den im Leguminosenversuch beschriebenen

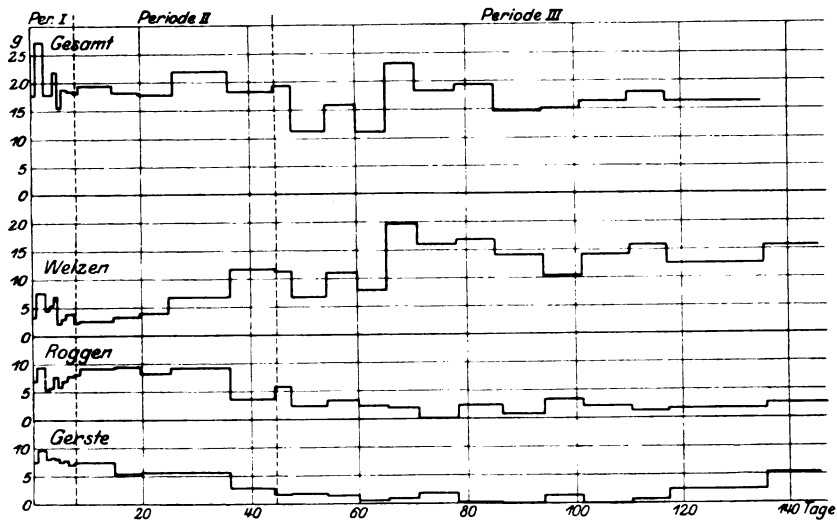


Diagramm II. Auswahlversuch: Weizen, Roggen, Gerste.

Verhältnissen. Die Lebensdauer steht — wie sich noch erweisen wird — im Zusammenhang mit der Ernährungsart der Tiere.

In der ersten Periode steht im Verbrauch ausnahmslos Gerste an erster Stelle. Es folgt ebenso deutlich abgegrenzt Roggen an zweiter und Weizen an dritter Stelle. Die Tiere fressen am 1. Tag wenig Weizen, am 2. und 3. Tag unbedeutend mehr, worauf die Weizenkurve aber wieder sinkt, um eine minimale Hebung und Senkung während der

ersten Periode nochmals zu wiederholen. Im zweiten Zeitraum ist mit Ausnahme von einer Fütterungsperiode der Roggenverbrauch am stärksten, während Gerste und Weizen ihren Platz wechseln; es steht nämlich beim Einsetzen der Periode Gerste an zweiter Stelle, die dann ganz langsam abnimmt, ihren Platz dem Weizen räumt, der ihn in schneller Steigung erreicht, so daß zu Ende dieses Abschnittes die zweite Stelle von Weizen eingenommen wird. Während der dritten Periode steht Weizen ausnahmslos am höchsten, zu Beginn nimmt die zweite Stelle Roggen, am Ende Gerste ein. Zu Beginn der Periode nimmt der Weizenverbrauch noch zu, erreicht ein Maximum und geht dann ein wenig hinunter, während die Roggenkurve bis zum Nullpunkt fällt. Der Gesamtverbrauch nimmt viel langsamer ab. Gerste wird 3 Wochen hindurch absolut verschmäht, die Tiere wenden sich ihr später aber so entschieden zu, daß am Ende ihr Verbrauch 2 mal größer wird als der von Roggen und ungefähr den 4. Teil des Weizenverbrauches beträgt. Auf Grund der Werte, die aus dem Verhalten der einzelnen Tiere den vorgesetzten Nahrungsmitteln gegenüber ermittelt wurden, läßt sich feststellen, mit welcher Genauigkeit diese Daten bei den einzelnen Tieren zu verfolgen sind. Diese Angaben erscheinen wieder dem Geschlechte der Tiere nach geordnet in 2 Tabellen.

Die Männchen zeigen die oben geschilderten Gesetzmäßigkeiten sehr genau bestätigt. Alle 3 Tiere machen zunächst die Gerstenperiode durch, Tier 2 und 4 wenden sich an zweiter Stelle dem Roggen zu, ein Verhalten, das auch in der Mittelwertskurve klar zum Ausdruck kommt. Nur Tier 6 frißt Roggen am wenigsten, kompensiert aber diesen Ausfall in der zweiten Roggenperiode, die ganz ausgesprochen — nur etwas später als im Mittelwert dargestellt — auftritt, dadurch, daß es als erstes sich dem Roggen zuwendet. Tier 4 und 6 werden in der zweiten Periode durch den ständigen Wechsel zwischen Weizen und Gerste charakterisiert. Zu Beginn der zweiten Periode tritt Gerste an zweite Stelle, die aber am Ende von Weizen eingenommen wird. Bei Tier 2 steht in diesem Zeitabschnitt Gerste wohl absolut sehr hoch, aber doch noch immer niedriger als Roggen. Dieses Tier stirbt während der zweiten Periode. Die dritte, Weizenperiode, setzt ganz gleichzeitig bei den überlebenden Tieren ein und zeigt außer ihrem unverkennbaren Merkmal — dem höchsten Weizenverbrauch — eine Abweichung nur darin, daß während einer Fütterungsperiode das Tier mehr Gerste als Weizen frißt. Dieses Tier allein ist es auch, welches Unregelmäßigkeiten in bezug auf die Maximalmenge des aufgenommenen Mehles verursachte dadurch, daß es in der ersten Periode in 2 Fällen mehr Weizen als Gerste frißt, wodurch aber erst recht die Allgemeingültigkeit der Mittelwertskurve bewiesen ist.

Tabelle XLl.
Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.
(Männchen.)

Datum	Tier 2				Tier 4				Tier 6				Tage der Fütterungsperiode		
	Gewicht g	Nahrungsaufnahme in g			Gewicht g	Nahrungsaufnahme in g			Gewicht g	Nahrungsaufnahme in g					
		Weizen	Roggen	Gerste		Gesamt	Weizen	Roggen		Gerste	Gesamt	Weizen		Roggen	Gerste
5. II.	154	4,8	9,7	9,8	22,5	172	0,7	2,5	8,2	11,4	4,6	3,5	9,9	18,0	1
7. II.	—	10,0	10,0	10,0	30,0	—	0,8	10,0	10,0	20,8	5,4	10,0	10,0	25,4	2
8. II.	—	2,3	9,7	10,0	22,0	—	6,3	10,0	10,0	26,3	—	8,2	0,5	8,5	1
9. II.	—	3,5	9,9	9,9	23,3	—	0,3	8,8	9,9	19,0	—	9,2	0,0	9,5	1
10. II.	—	6,3	10,0	10,0	26,3	—	6,3	8,0	9,8	27,8	—	7,9	2,4	9,9	1
11. II.	—	3,2	2,2	9,3	14,7	—	0,2	9,0	9,7	18,9	—	7,8	2,7	3,2	1
12. II.	—	0,5	9,2	9,4	19,1	—	0,0	9,3	9,9	19,2	—	7,2	1,2	9,5	1
14. II.	—	1,5	9	9,5	20,0	—	2,0	9,8	10,0	21,8	—	9,2	6,5	8,0	2
15. II.	169	2,5	10,0	10,0	22,5	189	3,0	10,0	10,0	20,0	122	5,0	7,1	6,4	1
22. II.	154	—	—	—	—	—	—	—	—	—	134	—	—	—	—
23. II.	—	4,3	7,8	7,3	20,4	182	3,0	10,0	10,4	23,4	—	5,2	9,0	6,0	8
1. III.	—	2,3	10,7	9,0	22,0	—	2,7	11,0	7,8	18,5	—	5,2	8,0	3,7	6
3. III.	128	—	—	—	—	—	—	—	—	—	123	—	—	—	—
8. III.	—	2,1	9,5*)	8,1	19,7	—	3,4	7,6	6,1	17,1	—	5,3	7,0	3,0	7
12. III.	128	—	—	—	—	180	—	—	—	—	130	—	—	—	—
19. III.	—	—	—	—	—	188	—	—	—	—	138	—	—	—	—
22. III.	—	—	—	—	—	168	5,4	8,2	7,3	20,9	—	9,6	5,3	0,8	14
30. III.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	133	—	—	—	—
1. IV.	—	—	—	—	—	—	14,0	3,4	2,0	19,0	—	11,0	6,0	2,0	10
5. IV.	—	—	—	—	—	—	11,0	7,5	0,0	18,5	—	12,2	6,3	2,5	4
6. IV.	—	—	—	—	—	176	—	—	—	—	132	—	—	—	—
13. IV.	—	—	—	—	—	157	8,8	3,0	0,3	12,1	129	2,5	2,5	5,0	15
20. IV.	—	—	—	—	—	152	11,0	5,7	3,3	20,0	—	11,0	4,7	1,4	7
25. IV.	—	—	—	—	—	—	5,0**)	4,5	0,0	9,5	—	6,0	1,4	0,0	5

*) 16. III. gestorben. **) 24. IV. gestorben.

Tabelle XLII. Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.
(Weibchen.)

Datum	Tier 1					Tier 3					Tier 5				
	Gewicht		Nahrungsaufnahme in g			Gewicht	Nahrungsaufnahme in g			Gewicht	Nahrungsaufnahme in g			Gewicht	
			Weizen	Roggen	Gerste		Gesamt	Weizen	Roggen		Gerste	Gesamt	Weizen		Roggen
5. II.	166	6.1	8.2	8.8	22.5	127	5.2	9.3	1.0	15.5	197	1.2	9.9	10.0	21.1
7. II.	—	9.1	10.0	10.0	29.1	—	9.8	9.7	10.0	29.5	—	7.7	10.0	10.0	27.7
8. II.	—	1.5	9.0	8.2	18.7	—	5.5	6.3	9.2	21.0	—	7.7	8.7	3.8	17.2
9. II.	—	—	9.8	9.9	—	—	7.2	—	9.3	—	—	9.2	1.7	3.3	14.2
10. II.	—	7.0	10.0	10.0	27.0	—	6.7	7.7	9.5	22.9	—	9.5	9.0	0.0	18.5
11. II.	—	1.3	9.5	7.7	18.5	—	1.7	8.8	8.8	19.3	—	7.0	5.0	—	—
12. II.	—	1.2	9.2	9.5	19.9	—	0.8	9.3	9.0	19.3	—	9.7	5.8	0.5	16.7
14. II.	—	1.0	10.0	6.0	17.0	—	1.5	9.9	9.7	21.1	—	9.7	6.0	1.0	16.7
15. II.	189	1.0	10.0	9.7	19.7	137	0.0	9.5	10.0	19.5	199	6.0	5.0	1.0	12.0
22. II.	198	—	—	—	—	141	—	—	—	—	202	—	—	—	—
23. II.	—	4.0	10.7	8.8	23.5	—	—	10.7	9.0	—	—	8.4	9.7	4.3	17.4
1. III.	—	4.0	11.4	4.6	20.0	—	1.2	9.6	7.8	18.6	—	4.8	8.6	4.5	17.9
3. III.	193	7.8	—	8.1	—	143	—	—	—	—	191	—	—	—	—
8. III.	—	—	—	—	—	148	—	—	—	—	—	—	—	—	—
12. III.	216	—	—	—	—	153	—	—	—	—	200	—	—	—	—
19. III.	213	—	—	—	—	—	—	—	—	—	198	—	—	—	—
22. III.	—	8.2	11.0	2.3	21.5	—	6.2	9.3	2.5	18.0	—	8.0	9.6	1.6	19.2
30. III.	193	—	—	—	—	145	—	—	—	—	163	—	—	—	—
1. IV.	—	12.0	5.0	3.2	20.2	—	10.0	3.0	5.5	18.5	—	—	—	—	—
5. IV.	—	16.0	6.2	2.5	24.7	—	10.0	3.7	1.2	14.9	—	15.2	2.4	1.8	19.4
6. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	11.7	7.7	2.0	20.7
13. IV.	197	11.0	2.5	2.5	16.0	136	8.8	2.0	0.0	10.8	166	—	—	—	—
20. IV.	187	15.0	0.7	3.3	19.0	127	9.3	3.0	0.9	13.2	—	5.0**)	2.5	1.0	8.3**)
27. IV.	—	14.3	1.4	0.3	16.0	—	7.5*)	8.5	1.0	12.0*)	—	—	—	—	—
4. V.	—	20.7	2.1	1.0	23.8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. V.	180	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. V.	—	17.0	0.0	1.9	18.9	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
20. V.	—	17.8	2.2	0.0	20.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30. V.	180	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
31. V.	1	14.5	0.5	0.0	15.0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. VI.	—	10.7	8.4	1.4	16.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
10. VI.	150	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. VI.	147	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
30. VI.	153	16.4	0.7	1.4	18.5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
18. VII.	125	12.8	1.7	1.8	16.3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. VII.	108	10.6	2.8	1.5	25.4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Dieselben natürlichen Gliederungsgrenzen, die uns das Leben der Männchen während des Versuches ergab, treten auch bei den Weibchen ein, nur mit vergleichsweise stärker in die Erscheinung fallenden Verschiebungen: Die erste Gerstenperiode ist sehr kurz, ihr folgt eine Zeit mit Weizen als maximal verzehrter Nahrung, wodurch die verkürzte erste Periode ungefähr auf die normale Zeitspanne ergänzt wird, worauf wir erst die eigentliche zweite Roggenperiode eintreten und diese wieder mit einwandfreier Regelmäßigkeit von allen 3 Tieren durch ihren gleichzeitigen Übergang in die dritte Weizenperiode abgelöst sehen.

Während des ersten Zeitraumes steht auch Roggen wieder an zweiter Stelle mit der einzigen Ausnahme bei Tier 5, welches diesen Platz Weizen einnehmen läßt.

Bei den sich normal verhaltenden Weibchen ist die erste Periode viel kürzer als bei den Männchen, sie unterscheidet sich in der Länge bei den beiden Weibchen nur um einen Tag, wie wir auch für die zweite Periode genau gleiche Grenzen beobachten können. Das 5. Tier weist in Anbetracht der oben besprochenen Komplikation der Gerste-Weizenperiode, eine — allerdings zusammengesetzte — ebensolche Länge der ersten Periode auf, wie die kürzeste der Männchen. Interessanterweise finden wir bei beiden Tieren mit von der Norm abweichendem Verhalten gemeinsame Züge, so daß die scheinbaren Unregelmäßigkeiten doch das Gepräge der Gesetzmäßigkeit erhalten. Wir müssen dazu nur in Betracht ziehen, daß beide, sowohl Männchen als Weibchen, in der ersten Periode schon dem Weizen den Vorzug geben und außerdem die hier gefundenen Verhältnisse mit der im vorigen Versuch beobachteten Tatsache vergleichen, wonach die Weibchen den Roggen mehr bevorzugt haben als die Männchen, somit im früheren Eintreten der Roggenperiode bei den Weibchen eine tiefere, wenn auch noch nicht näher erkannte Ursache liegt. Die Länge der einzelnen Perioden bei den einzelnen Tieren ist aus Tabelle XLIII ersichtlich.

Tabelle XLIII.

Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.

Länge der Weizen-, Roggen-, Gerstenperiode bei den einzelnen Tieren.

	Nr. des Tieres	Tage			Bemerkung
		Gerste	Roggen	Weizen	
♂	2	19	22	—	Das Tier ist während der zweiten Periode gestorben.
	4	19	27	33	
	6	10	22	44	
♂	1	6	40	12	
	3	7	39	31	
	5	11	35	20	

Tabelle XLIV.
Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.

Periode	♂ 2, ♀ 1				♂ 4, ♀ 3				♂ 6, ♀ 4			
	Länge der Periode	Aufgenommene Nahrung in g			Länge der Periode	Aufgenommene Nahrung in g			Länge der Periode	Aufgenommene Nahrung in g		
		Weizen	Roggen	Gerste		Weizen	Roggen	Gerste		Weizen	Roggen	Gerste
I	19	80,5	161,1	173,8	415,4	48,1	179,0	190,9	432,6	74,1	43,3	86,5
II	21	28,5	130,7	110,7	269,9	115,6	234,0	131,7	480,1	114,9	176,1	97,6
III	21	—	—	—	—	351,4	145,9	45,5	538,8	420,2	219,8	91,0
Summe		109,0	291,8	284,5	685,3	515,1	549,9	368,1	1451,5	609,2	439,2	275,1
	6	(32,8)	57,0	56,9	(126,4)	—	—	—	—	16,6	9,9	30,0
	40	230,9	(356,7)	232,8	(701,1)	49,9	(51,5)	57,8	(137,7)	65,2	47,2	(10,6)
	121	1771,6	251,6	272,3	2295,4	39	367,0	227,5	(697,8)	189,0	335,7	113,2
Summe		—	—	—	3344,4	31	88,8	73,1	447,4	226,0	69,8	32,0
									1375,2			
												1144,8

(Bei den in () befindlichen Werten fehlen einzelne Daten der Futteraufnahme.)

Wie schon gesagt, ist die erste Periode bei den Männchen länger als bei den Weibchen, insbesondere wenn wir nur die reine Gerstenperiode ins Auge fassen. Die Summe der beiden ersten Perioden ist bei den Weibchen ganz gleich, ziemlich gleichlang bei den Männchen und annähernd gleich mit den für die Weibchen gefundenen Werte. Weder die Lebensdauer noch die Dauer der dritten Periode ist mit der genannten Summe der beiden ersten Zeitspannen in Zusammenhang zu bringen.

In Tabelle XLIV und XLV sind die Gesamt-mengen der aufgenommenen Nahrung, besonders deren tägliche Mittelwerte angegeben.

Aus Tabelle XLIV ersehen wir, daß die während des Versuches verzehrte Menge eines Mehles das Körpergewicht des Tieres mehrfach übertrifft und mit der Menge seiner Trockensubstanz gar nicht vergleichbar ist; 2. daß die vorher geschilderte Gesetzmäßigkeit auch in den Einzelwerten der aufgenommenen Nahrung sehr deutlich zum Ausdruck gelangt.

Zunächst finden wir nur in einem einzigen Fall eine einzige Ausnahme, indem ein Tier während einer Periode die betreffende Nahrung nicht dem Mittelwert entsprechend aufnimmt und zwar ist während der Gerstenperiode der Roggenverbrauch von seiten des einen Weibchens etwas größer als der von Gerste. Die erste Periode der Tiere kann man nicht als Ausnahme betrachten, da sich hier nur die Abwechslung zwischen Gerste-Roggen-Weizen nur 2 mal wiederholt, einmal rudimentär in der ersten Periode, wo besonders die Roggenperiode nur einen Tag lang dauert, um dann in die Weizenperiode überzugehen. Dann folgt eine längere Roggenperiode, welche zeitlich auch der Periode der anderen Tiere entspricht, und diese wird ganz regelmäßig von der Weizenperiode abgelöst.

Wir können gegenüber 16 stimmenden nur einen abweichenden Mittelwert sehen, was also ein sehr gut zutreffendes biologisches Gesetz bedeutet, um so mehr als die ganze Abweichung dadurch verursacht ist, daß Tier 3 sich am 1. Versuchstag anders verhält, was wahrscheinlich mit der Vorfütterung zusammenhängt.

Die Lebensdauer der Tiere scheint mit dem regelmäßigen Abwechseln der Perioden zusammenzuhängen, denn bei den 2 bald verendeten Tieren sehen wir eben die Abweichungen in dem quantitativen Verbrauch der einzelnen Nahrungsmittel.

Am frühesten stirbt Tier 2. Hier sehen wir während der zweiten Periode den geringsten Weizen- und den höchsten Gersteverbrauch. Besonders auffallend ist dies, wenn wir den Wert auf die Gesamtmenge der Nahrung beziehen.

Bemerkenswert ist der viel größere Nahrungsverbrauch der Weibchen, besonders wenn wir ihr im Vergleich zu den Männchen geringeres Gewicht in Betracht ziehen. Tier 1, welches alle anderen um ein Beträchtliches überlebt, sehen wir die ganze Versuchszeit hindurch am meisten fressen, ein Zusammenhang, dessen allgemeine Gültigkeit die in Tabelle XLV eingetragenen Daten beweisen, die einerseits die — besonders in der ersten Periode — aufgenommene Gesamtnahrung, andererseits die Lebensdauer der Tiere darstellend, miteinander in einfache Beziehung gebracht werden können. Noch deutlicher ersichtlich sind diese Verhältnisse aus den Zahlen der Tabelle XLV, in der Lebensdauer und aufgenommene mittlere Gesamtnahrungsmengen eingetragen sind.

Die mittlere Nahrungsaufnahme geht mit der Lebensdauer parallel. Geringe Abweichungen machen sich zwischen den Geschlechtern bemerkbar, obwohl nicht durch sie erklärbar, da einerseits Männchen 5 und Weibchen 6 gleichen mittleren Nahrungsverbrauch und verschiedene Lebensdauer, Männchen 3 und Weibchen 4 verschiedene Nahrungsaufnahme und gleiche Lebensdauer aufweisen. Die einzig mögliche Erklärung bietet sich im verschiedenen Gewicht der Tiere. Jedenfalls

Tabelle XLV.

Auswahlversuch: Weizen-, Roggen-, Gerstenmehl.

Periode	Getreide	♂			♀		
		2	4	6	1	3	5
Mittlerer Verbrauch.							
I	Weizen	4,2 ₈	2,6	7,4	6,5	7,1	5,5
	Roggen	8,6	9,5	4,3	9,5	8,6	3,3
	Gerste	9,1	10,0	8,6	9,5	8,2	10,0
Ia	Weizen	—	—	—	—	—	8,1
	Roggen	—	—	—	—	—	5,9
	Gerste	—	—	—	—	—	1,6
II	Weizen	1,3	4,3	5,2	5,8	3,3	5,4
	Roggen	6,2	8,7	8,0	10,8	9,4	9,6
	Gerste	5,3	4,8	4,4	5,8	5,8	3,2
III	Weizen	—	10,6	9,5	14,7	9,4	11,3
	Roggen	—	4,4	5,0	2,1	2,3	3,5
	Gerste	—	1,4	2,0	2,3	1,9	1,6
Gesamtnahrungsverbrauch.							
I	—	21,95	22,1	20,4	25,5	23,9	18,8
Ia	—	—	—	—	—	—	15,6
II	—	12,8	17,8	17,6	22,4	19,5	18,2
III	—	—	16,4	16,5	19,1	13,6	16,4
Lebensl.	—	70	79	76	121	79	66

sind die beobachteten Unregelmäßigkeiten so geringfügiger Art, daß sie das Resultat, die Abhängigkeit der Lebensdauer von der mittleren Nahrungsaufnahme nicht beeinträchtigen können.

Eine weitere einfache Gesetzmäßigkeit läßt sich zwischen der Menge des maximal verbrauchten Nahrungsmittelbestandteiles und dem Gesamtgewicht der beiden anderen Nahrungsmittel feststellen; und zwar finden wir in den ersten Perioden den Gerstenverbrauch geringer als die Summe der beiden anderen Mehle, sehen hingegen eine Verschiebung während der zweiten Periode, in dem Sinne als in einigen Fällen die Menge des bevorzugten Roggens mehr beträgt als die Summe der beiden anderen Nahrungskomponenten und ein endgültiges Stabilisieren innerhalb der dritten — Weizen — Periode, da die quantitative Dominanz des Weizens so ausgeprägt erscheint, daß die Summe bei den recedierenden Mehlen ein Drittel des Weizenkonsums beträgt. Wir sehen also auffallenderweise einen Übergang zu einer einseitigeren Ernährung. Einen guten Beweis für diese Auffassungsart gibt uns das Verhalten des so oft erwähnten Tieres Nr. 5, durch die nur bei ihm feststellbare zweite Weizenperiode. In der ersten Periode ist der mittlere tägliche Verbrauch von Roggen und Gerste zusammen 7,5 g, annähernd gleich groß wie der von Weizen, 8,1 g, während dieses Verhältnis sich in der zweiten Weizenperiode so verschiebt, daß Roggen + Gerste

5,1 g gegen 11,3 g Weizen steht, also jene Summe um das Doppelte übertrifft. Das Verhältnis: Summe der Begleitnahrung dividiert durch maximale Nahrung ergibt folgende Werte:

Gerstenperiode	0,88
I. Weizenperiode	0,88
Roggenperiode	0,85
II. Weizenperiode	0,45

Was das vorher Gesagte vollinhaltlich beweist.

Der Ablauf dieses Versuches erinnert in dieser Beziehung an den vorhergehenden, in dem wir beobachtet haben, daß die Tiere, nachdem sie von Maiskörnern zu Weizenkörnern übergegangen sind, sich zu Ende des Versuches quantitativ viel eher einseitig nähren als zu Beginn desselben.

Die Resultate dieser beiden Versuche können wir wie folgt zusammenfassen:

1. Die Nahrungsauswahl verläuft ganz typisch und ist nach Perioden abgrenzbar.

2. In beiden ist zu Ende des Versuches der Verbrauch von Weizen größer als der der beiden anderen Nahrungsmittel, wobei jedoch daran erinnert werden muß, daß, sobald die Körner durch die entsprechenden Mehle ersetzt werden, wie dies im ersten Versuch geschah, die Tiere mehr Mais als Weizenmehl fressen.

3. Im zweiten Versuch sehen wir den Gebrauch der Ernährungsarten den menschlichen Erfahrungen entsprechend insofern das Versuchstier innerhalb der Versuchsdauer denselben Wandel des Geschmacks unterworfen ist wie der Mensch während seiner geschichtlichen Entwicklung: Beide sehen wir von Gerste als Hauptbestandteil ihrer Nahrung zu Roggen, von diesem zu Weizen übergehen.

4. In beiden Versuchen wenden sich die Tiere immer entschiedener einer einseitigen Ernährungsweise zu.

5. Der quantitative Ablauf der einzelnen Futterperioden weist einfache Regelmäßigkeiten auf in bezug auf ihre zeitliche Dauer sowohl als auch in bezug auf die in der Zeit aufgenommene Nahrung.

6. Die Gesamtmenge der aufgenommenen Nahrung nimmt in beiden Versuchen mit ihrer fortschreitenden Dauer ab.

7. Im zweiten (Gerste, Roggen, Weizen) Versuch sehen wir die Lebensdauer der Tiere abhängig von der mittleren täglichen Nahrungsaufnahme.

8. In beiden Versuchen zeigen die beiden Geschlechter augenfällige Differenzen in der Nahrungsaufnahme, und zwar haben die Weibchen eine Vorliebe für Roggen, von dem sie im ersten Versuch bedeutend mehr fressen als die Männchen, und im zweiten Versuch, während der Roggenperiode dieses Verhältnis aufrechterhalten. Außerdem ist im zweiten

Versuch die mittlere Gesamtnahrungsaufnahme größer von seiten der Weibchen als von seiten der Männchen.

Durch diese Versuche ist es gelungen, zwischen den verschiedenen Cerealien gut definierbare biologische Unterschiede aufzufinden, die, obwohl der wissenschaftlichen Ernährungslehre bis jetzt ganz fremd, in der praktischen Ernährung des Menschen schon von jeher berücksichtigt waren. Wir können auf diese Weise die verschiedene Wirkung dieser chemisch so ähnlichen Nahrungsmittel nicht nur nachweisen, sondern sogar messen und durch entsprechende Variation der Versuchsbedingungen die einzelnen Bedingungen der Wirksamkeit kennenlernen. Damit haben wir neue Gesichtspunkte für die praktischen Erfahrungen der Medizin gewonnen, die oftmals Differenzen zwischen den verschiedenen Cerealien angibt. Es soll nur auf die Haferkuren von Noorden hingewiesen werden und auf das Parallelllaufen der Klotzschen¹⁾ Hafer-, Gerste-, Roggen-, Weizenreihe mit unseren Befunden. Dabei soll aber keineswegs die Richtigkeit der Klotzschen Anschauungen über die Rolle der Stärkearten der einzelnen Cerealien als unzweifelhaft angenommen werden, deren Unzulänglichkeit schon Maurizio²⁾ betont hat. Wir werden noch bei der Untersuchung des Mahlprozesses sehen, daß vielmehr die Qualität der verschiedenen Cerealienöle ganz ähnliche Beobachtungen zuläßt. Diese Beobachtungen stehen in kausalem Zusammenhang mit den am Tier festgestellten Erscheinungen und werden durch die nach König zitierten Analysenzahlen gestützt.

¹⁾ Klotz, Die Bedeutung der Getreidearten f. d. Ernährung. 1912.

²⁾ Maurizio, Die Nahrungsmittel aus Getreide. S. 156.

Die Untersuchung des Mahlprozesses¹⁾.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 3 Abbildungen im Text.

Vom Standpunkte der hier vertretenen Auffassung im allgemeinen wie auch für die Cerealien im speziellen ist die Untersuchung des Mahlprozesses besonders interessant. Man hat diesem Prozeß bis jetzt höchstens eine Trennung der einzelnen Teile des Samens als Wirkung zugesprochen, keinesfalls aber eine chemische Beeinflussung. Diese Verhältnisse festzustellen war für uns einerseits schon aus methodischen Rücksichten notwendig, da wir entscheiden mußten, ob die Ratten als Nagetiere nicht lediglich der Konsistenz wegen die Körner in ihrer Originalgestalt bevorzugen, andererseits galt es eben die wichtige Frage der Ernährungslehre zu beantworten, ob infolge des Mahlprozesses die Mehle verändert sind. Eine direkte Untersuchung war bis jetzt nicht möglich, wohl aber können wir die Brauchbarkeit der neuen Methode jetzt in diesen Untersuchungen prüfen.

Daß Samen durch den Mahlprozeß verändert werden können, beobachtet man an der Erbse, indem ihr Mehl bitter schmeckt. Ähnlich ist es beim Mais, der mit dem Keim gemahlen ein leicht verderbliches Mehl ergibt. Diese Folgen sind direkt an das Vorhandensein der Keime geknüpft, die erst im gemahlenen Zustand einen bitteren Geschmack annehmen. Entfernt man den Keim, der im ursprünglichen Zustand nicht bitter ist, vor dem Mahlen, erzielt man ein gutes Mehl. Eine weitere Analogie bietet der Reis, der mit vollkommen ausgearbeiteten technischen Hilfsmitteln geschält, Beriberi verursacht. Wenn man auch nicht in Betracht ziehen kann, daß ähnliche Erscheinungen beim Mahlen

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig und St. Deutsch ausgeführt.

von Roggen und Weizen eine Rolle spielen könnten, schien doch eine Klarlegung der Verhältnisse für diesen Fall von Interesse. Nachdem man den Zusammenhang zwischen dem Schälen des Reises und Beriberi erkannt hat, wurde öfters darauf hingewiesen, daß auch mit der Kleie „Vitamine“ verlorengehen, welcher Hinweis auch durch die Versuche von Aron (l. c.) gestützt wird. Doch ist es zweifellos, daß das Entfernen der Keime keine solchen Wirkungen hervorrufen kann wie das Schälen des Reises. Ganz im Gegenteil scheint — wie wir noch sehen werden — die Kleie infolge des Mahlens verschlechtert zu werden, und deswegen von der Nahrung instinktiv ausgeschaltet.

Wir verfügen derzeit über 5 vergleichende Versuchsreihen, die mit ganzen Körnern und Mahlprodukten angestellt wurden.

Die Versuche wurden mit folgenden Nahrungsmitteln ausgeführt:

1. Weizenkörner — Weizenfeinmehl,
2. Roggenkörner — Roggenmehl (80 proz. Ausmahlung),
3. Weizenkörner — Weizenfeinmehl 70% — Weizenkleie 15%,
4. Weizenkörner — künstliche Weizenkörner aus Weizenfeinmehl — Weizenfeinmehl,
5. Weizenkörner — künstliche Weizenkörner aus 95 proz. Weizenmehl — Weizenmehl (95 proz. Ausmahlung).

Zunächst seien diese Versuchsreihen im einzelnen behandelt.

1. Weizenkörner — Weizenfeinmehl. Zu diesem Versuch haben wir ziemlich kleine, ungefähr 60 g schwere Ratten verwendet.

In Tabelle I sind die Mittelwerte der Nahrungsaufnahme von 5 Tieren angegeben.

Tabelle XLVI.
Auswahlversuch: Weizenkörner, Weizenmehl.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Mittlere Nahrungs- aufnahme in g			Verbrauch Mehl- Körner	Bemerkungen
			Weizen- körner	Weizen- mehl	Gesamt		
3. V.	60,8	—	—	—	—	—	
4. V.	—	1	8,3	3,0	11,3	0,4	
5. V.	—	1	7,6	3,5	11,1	0,47	
7. V.	—	2	7,0	3,4	10,0	0,48	
9. V.	—	2	12,8	2,0	14,8	0,16	
10. V.	—	1	17,5	3,0	20,5	0,17	
11. V.	62,5	—	—	—	—	—	
18. V.	—	8	8,3	3,3	11,6	0,38	
20. V.	48,5	—	—	—	—	—	19. V. Tier 4 ♂ gestorb.
24. V.	—	6	6,9	4,4	11,3	0,66	20. V. Tier 1 ♂ gestorb.
30. V.	67,5	—	—	—	—	—	
1. VI.	—	8	8,1	5,9	14,0	0,73	
10. VI.	62,0	—	—	—	—	—	
13. VI.	—	12	6,3	6,9	13,2	1,1	
15. VI.	50,0	2	4,0	13,0	17,0	3,2	15.V. Tier 5 ♂ u. Tier 6 ♀ gestorben.

Wir ersehen daraus, daß die Tiere ganz regelmäßig bedeutend mehr Weizen in Form des Kornes verbrauchen als von Mehl. Der Unterschied ist am größten in der Mitte der ersten Versuchswoche. Dann gehen die Tiere langsam auf Weizenmehl über, von dem sie kurz vor dem Tode mehr fressen als von den Körnern. Diese Beobachtungen werden sehr deutlich durch den Faktor $\frac{\text{Mehlverbrauch}}{\text{Körnerverbrauch}}$ ausgedrückt (letzte Spalte von Tabelle XLVI).

In den ersten 4 Tagen beträgt der Mehlverbrauch ungefähr 40% des Körnerverbrauches, sinkt in den nächsten 3 Tagen bis 16–17%,

Tabelle XLVII.
Auswahlversuch: Weizenkörner, Weizenmehl.

Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungs- mittel in g			Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungs- mittel in g		
			Weizen- körner	Weizen- mehl	Gesamt				Weizen- körner	Weizen- mehl	Gesamt
Tier 1 ♂.						Tier 5 ♂.					
3. V.	60	—	—	—	—	3. V.	61	—	—	—	
4. V.	—	1	8,0	1,0	9,0	4. V.	—	1	4,0	5,0	9,0
5. V.	—	1	9,0	2,0	11,0	5. V.	—	1	8,0	5,0	13,0
7. V.	—	2	9,0	2,0	11,0	7. V.	—	2	8,0	6,0	14,0
9. V.	—	2	7,0	1,5	8,5	9. V.	—	2	17,0	6,5	23,5
10. V.	—	1	10,0	1,0	11,0	10. V.	—	1	10,0	5,0	15,0
11. V.	60	—	—	—	—	11. V.	70	—	—	—	
18. V.	—	8	11,2	1,8	13,0	18. V.	—	8	10,0	7,0	17,0
20. V.	40	—	—	—	—	20. V.	50	—	—	—	
24. V.	—	6	3,3	2,5	5,8	24. V.	—	6	5,0	6,6	11,6
Tier 2 ♀.						30. V.	70	—	—	—	
3. V.	61	—	—	—	—	1. VI.	—	8	6,2	5,6	11,8
4. V.	—	1	6,0	7,0	13,0	10. VI.	70	—	—	—	
5. V.	—	1	2,0	10,0	12,0	13. VI.	—	12	5,0	6,6	11,6
7. V.	—	2	0,0	7,0	7,0	15. VI.	50†	—	—	—	
Tier 4 ♀.						15. VI.	—	2	4,0	13,0	17,0
3. V.	61	—	—	—	—	Tier 6 ♀.					
4. V.	—	1	7,0	3,0	10,0	3. V.	61	—	—	—	
5. V.	—	1	10,0	0,0	10,0	4. V.	—	1	17,0	2,0	19,0
7. V.	—	2	9,1	2,0	11,1	5. V.	—	1	17,0	4,0	21,0
9. V.	—	2	12,0	0,0	12,0	7. V.	—	2	8,5	0,0	8,5
10. V.	—	1	25,0	3,0	28,0	9. V.	—	2	15,5	0,0	15,0
11. V.	60	—	—	—	—	10. V.	—	1	25,0	3,0	28,0
18. V.	—	8	3,7	1,8	5,5	11. V.	60	—	—	—	
20. V.	44	—	—	—	—	18. V.	—	8	8,1	2,5	10,6
						20. V.	60	—	—	—	
						24. V.	—	6	12,5	4,1	16,6
						30. V.	65	—	—	—	
						1. VI.	—	8	10,0	8,1	18,1
						10. VI.	60	—	—	—	
						13. VI.	—	12	7,5	7,0	14,5
						15. VI.	50	—	—	—	
						15. VI.	—	2	4,0	13,0	17,0

steigt von da an ganz regelmäßig, bis er in den letzten 2 Tagen vor dem Tode das 3fache des Körnerverbrauches ausmacht.

Aus den Einzeltabellen ersehen wir dasselbe Verhalten der Tiere. 3 Tiere fressen zwar am 1. Versuchstag mehr Mehl als Körner, eines von ihnen verbleibt beim Mehl und stirbt nach einigen Tagen. Beide am längsten lebenden Tiere fressen mehr Mehl am Ende des Versuches als Körner, die früher verendeten weisen eine relative Verbrauchszunahme des Weizenmehls auf, der aber den von den Körnern nicht erreicht. Aus diesem Versuch geht hervor, daß die Tiere zwischen Weizenkörnern und Weizenmehl wesentliche Unterschiede machen, er macht es außerdem wahrscheinlich, daß der Umstand, daß es sich um Nagetiere handelt, nicht von Bedeutung ist, da die Tiere im Anfang des Versuches relativ mehr Mehl als Weizen verzehren und erst später auf die Körner übergehen.

Die Tiere nehmen bei dieser Fütterung überhaupt nicht oder nur wenig zu, hingegen macht das Wachstum Fortschritte, so daß sie sehr abmagern. Auf diese Weise ist es denkbar, daß die vor dem Tode bemerkbare Bevorzugung des Mehles als Nahrungsmittel auf die Schwäche der Kaumuskulatur zurückzuführen ist.

2. Roggenkörner — Roggenmehl. Die Nahrungsaufnahme verläuft ganz ähnlich wie beim Weizenversuch. Die Ratten fressen bedeutend mehr Mehl als Körner. Auch der quantitative Ablauf ist im großen und ganzen ähnlich dem im ersten Versuch beschriebenen.

Tabelle XLVIII.
Auswahlversuch: Roggenkörner, Roggenmehl.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Mittlere Nahrungs- aufnahme in g			R. M. R. K.
			Roggen- körner	Roggen- mehl	Gesamt	
15. III.	125	1	6,2 ₅	4,9	11,2	0,8
16. III.		1	5,9	3,1	9,0	0,5
17. III.		1	6,6 ₅	5,7 ₅	12,4	0,9
18. III.		1	5,9 ₅	2,2 ₅	8,2	0,39
19. III.	100	1	6,7 ₅	2,1	8,8 ₅	0,35
31. III.	97,6	12	0,8	4,5 ₇	15,4	0,46
6. IV.	91	6	10,5	5,9	16,4	0,57
12. IV.		6	10,0	3,0	13,0	0,3
23. IV.		9	†	—	—	—

Im Beginn fressen die Tiere verhältnismäßig viel Mehl, genau nach der gleichen Zeit wie im ersten Versuch (nach 3 Tagen) sinkt der Mehlverbrauch ganz bedeutend, um dann wieder rasch zuzunehmen. Beim Roggen erreicht der Mehlverbrauch auch vor dem Tode nicht den Körnerverbrauch. (Im Mittelwert sehen wir zuletzt einen verhältnis-

mäßig geringen Mehlerverbrauch. In dieser Fütterungsperiode lebt nur 1 Tier und der frühere höhere Mittelwert ist durch den vor dem Tode gesteigerten Mehlerverbrauch verursacht. Die Futterwägungen des letzten Tieres wurden in den letzten Tagen unterlassen.) Hier soll noch auf den analogen Verlauf in den Verhältniszahlen von Körnern zu Mehl in beiden Versuchen hingewiesen werden.

Tabelle XLIX.
Auswahlversuch: Roggenkörner-Roggenmehl.

Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungs- mitteln in g			Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungs- mitteln in g		
			Roggen- korn	Roggen- mehl	Gesamt				Roggen- Korn	Roggen- Mehl	Gesamt
Tier 1.						Tier 4.					
15. III.	145	—	—	—	—	15. III.	97	—	—	—	—
15. III.	—	1	10,0	3,0	13,0	15. III.	—	1	7,5	7,5	15,0
15. III.	—	1	8,5	3,0	11,5	16. III.	—	1	7,8	0,2	8,0
16. III.	—	1	9,5	4,0	13,5	17. III.	—	1	6,5	0,2	6,7
18. III.	—	1	8,5	2,0	10,5	18. III.	—	1	6,0	1,2	7,2
19. III.	—	1	8,0	0,5	8,5	19. III.	—	1	5,5	0,0	5,5
19. III.	128	—	—	—	—	19. III.	75	—	—	—	—
31. III.	—	12	11,0	5,77	16,77	31. III.	—	12	4,5	1,55	6,1
31. III.	133	—	—	—	—	6. IV.	—	8	7,0	6,7	13,7
8. IV.	—	8	14,5	7,0	21,5	6. IV.	†56	—	—	—	—
13. IV.	126	—	—	—	—	Tier 5.					
20. IV.	95	—	—	—	—	15. III.	132	—	—	—	—
23. IV.	†	—	—	—	—	15. III.	—	1	10,0	6,5	16,5
Tier 2.						16. III.	—	1	6,5	5,5	12,0
15. III.	105	—	—	—	—	17. III.	—	1	3,0	8,3	11,3
15. III.	—	1	0,0	8,0	8,0	18. III.	—	1	6,0	7,3	13,3
16. III.	—	1	2,0	4,5	6,5	19. III.	—	1	10,0	3,0	13,0
17. III.	—	1	9,2	7,0	16,2	19. III.	88	—	—	—	—
18. III.	—	1	8,2	0,0	8,2	31. III.	—	12	7,0	4,0	11,0
19. III.	—	1	6,0	1,0	7,0	31. III.	†90	—	—	—	—
19. III.	80	—	—	—	—	Tier 6.					
31. III.	—	12	11,7	2,0	13,7	15. III.	148	—	—	—	—
6. IV.	68	—	—	—	—	15. III.	—	1	9,0	1,0	10,0
6. IV.	†	—	—	—	—	16. III.	—	1	8,3	2,0	10,3
Tier 3.						17. III.	—	1	10,0	8,0	18,0
15. III.	135	—	—	—	—	18. III.	—	1	6,0	3,0	9,0
15. III.	—	1	1,0	9,2	10,2	19. III.	—	1	5,0	3,0	8,0
16. III.	—	1	2,5	3,0	5,5	19. III.	125	—	—	—	—
17. III.	—	1	1,7	7,0	8,7	31. III.	—	12	10,0	4,57	14,57
18. III.	—	1	6,0	0,0	6,0	31. III.	80	—	—	—	—
19. III.	—	1	6,0	5,0	11,0						
19. III.	105	—	—	—	—						
21. III.	—	12	15,0	7,0	22,0						
24. III.	87	—	—	—	—						
24. III.	†	—	—	—	—						

Aus den für die einzelnen Tiere ermittelten Daten erschen wir bei 3 Tieren den höheren Mehlverbrauch im Beginn des Versuches, eine Ausnahme nur bei einem Tier, da es mehr Körner frißt als Mehl. In der Art des Überganges von Mehl zu Körnern machen sich große individuelle Differenzen bemerkbar. Wieder ist es der anfänglich größere Mehlverbrauch, der dagegen spricht, daß die Körner als solche von den Nagetieren lieber gefressen werden. Andererseits geht aus der weitreichenden Analogie mit dem Weizenversuch hervor, daß die Veränderungen, die das Korn durch das Mahlen erfahren hat, in regelmäßigen Wirkungen sowohl bei Weizen als auch bei Roggen zum Ausdruck kommt. In dem Versuch mit Weizennahrung haben wir kleine Tiere verwendet, von der Annahme ausgehend, daß die kleineren Tiere

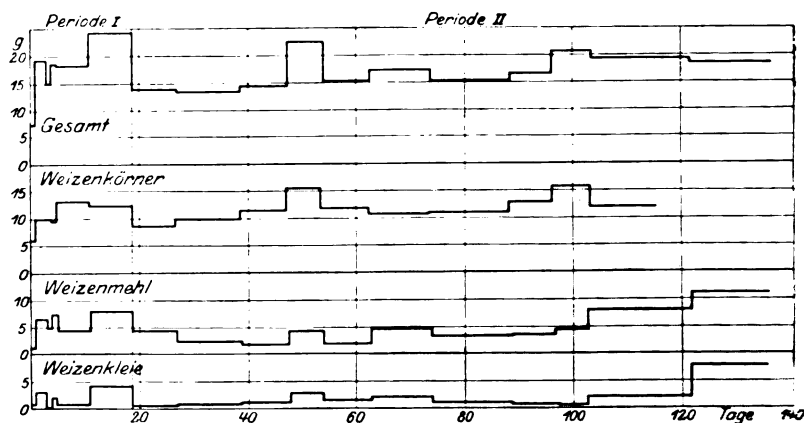


Diagramm I. Auswahlversuch: Weizenkörner, Weizenmehl, Weizenkleie.

mehr Mehl verzehren als die größeren. Diese Annahme sahen wir nicht bestätigt, kommen aber infolge der Verschiedenheiten in bezug auf Alter und Gewicht der Tiere um die Möglichkeit, die beiden Versuche auch quantitativ zu vergleichen. Keinesfalls wären aber solche Analogien so wichtig gewesen, wie die großen Ähnlichkeiten im Ablauf der Nahrungsaufnahme trotz der großen Differenzen in den Lebensdaten der Versuchstiere.

3. Weizenkörner, Weizenmehl, Kleie. Die Mittelwerte der Nahrungsaufnahme sind in Tabelle L zusammengestellt.

Wie aus Tabelle L ersichtlich, ist der Ablauf der Ernährung ganz typisch. Die Tiere fressen am meisten Weizenkörner, weniger Mehl, am wenigsten Kleie. Während des ganzen Versuches finden wir keine einzige Ausnahme von dieser Regel. Der Verbrauch von Körnern ist auch größer als die Summe der Mahlprodukte, der Unterschied ist, ebenso wie in den vorhergehenden Versuchen, am größten in der mittleren Periode.

Tabelle L.

Auswahlversuch: Weizenkleie, Weizenmehl, Weizenkörner.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Nahrungsaufnahme (Mengen in g)				Summe von Mehl + Kleie	Diffe- renz: Weizen- körner - (Mehl + Kleie)	Diffe- renz: Mehl - Kleie	15 % des Weizen- s	Diffe- renz: des Weizen- Körner - *) Kleie
			Weizen- körner	Mehl	Kleie	Ge- samt					
12. III.	—	1	6,0	1,1	0,4	7,5	1,5	+4,5	+0,7	0,9	+0,5
14. III.	—	2	10,0	6,4	3,0	19,4	9,4	+0,6	+3,4	1,5	-1,5
15. III.	—	1	10,0	5,0	0,0	15,0	5,0	+5,0	+5,0	1,5	+1,5
16. III.	—	1	9,7	7,4	1,7	18,8	9,1	+0,6	+6,7	1,4	-0,3
22. III.	—	6	13,2	4,5	0,6	18,3	5,1	+7,1	+3,9	2,0	+1,4
30. III.	120	8	12,3	8,1	4,1	24,6	12,2	+0,1	+4,0	1,9	-2,2
6. IV.	113	7	8,9	4,5	0,5	14,0	5,0	+4,9	+4,0	1,3	+0,8
7. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. IV.	109,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	13	9,9	2,6	1,0	13,5	3,6	+6,3	+1,6	1,4	+0,4
28. IV.	—	9	11,3	2,0	1,1	14,4	3,1	+8,2	+1,0	1,7	+0,6
4. V.	—	6	15,5	4,6	2,7	22,8	7,3	+8,2	+1,9	2,3	-0,4
11. V.	113,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	11,9	2,2	1,3	15,6	3,5	+8,4	+0,9	1,8	+0,5
20. V.	108,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. V.	—	11	10,7	4,8	1,9	17,4	6,7	+4,0	+2,9	1,6	-0,2
30. V.	125,0	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. VI.	—	13	10,9	3,5	0,8	15,2	4,3	+6,6	+2,7	1,6	+0,8
10. VI.	118,3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	10	12,8	3,5	0,6	16,9	4,1	+8,7	+2,9	1,9	+1,3
18. VI.	118,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	15,7	4,6	0,5	20,8	5,1	+10,6	+3,9	2,4	+0,9
8. VII.	109	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	18	11,9	8,3	1,4	20,3	9,7	+2,2	+6,9	1,8	+0,4
18. VII.	132,5	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. VII.	—	—	—	11,2	4,7	15,9	—	—	+6,5	—	—
28. VII.	132	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

*) Von 15% der Weizenkörner (Ausmahlung der Kleie) — der Kleieverbrauch.

Wie bei den meisten vorhergehenden sehen wir auch in diesem Versuch die sehr geringe Nahrungsaufnahme am 1. Tag, die jedoch schon am nächsten durch reichlichen Verbrauch kompensiert wird.

Der Kleieverbrauch ist während des ganzen Versuches ziemlich gering, er erreicht nur hie und da ganz unvermittelt höhere Werte.

In Tabelle LI ist die Nahrungsaufnahme der einzelnen Versuchstiere angegeben, die durchwegs einen sehr regelmäßigen Ablauf zeigt. Die Ausnahmen sind unbedeutend und nur quantitativer Art, indem hie und da der Kleieverbrauch den des Mehles übertrifft, oder der Verbrauchswert für Weizenkörner geringer wird als die Summe der Mahlprodukte. Die vorherrschende Stellung des Weizenkörnerverbrauches erfährt eine einzige, sicherlich nicht bedeutsame Einschränkung dadurch, daß das Tier 5 am 1. Versuchstag den Weizen überhaupt nicht berührt — es frißt insgesamt 0,4 g, davon 0,2 g Mehl — dafür um so mehr Körner am nächsten Tag.

(Fortsetzung auf S. 298.)

Tabelle LI.

Auswahlversuch: Weizenkleie, Weizenmehl, Weizenkörner.

Datum	Gewicht	Tage	Menge der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Mehl + Kleie	WK - (M + K)	Differenz M-K	Kg 15% des Weizenverbrauchs	Kg-Kl WK 15% - Kleie
			Weizen			Gesamt					
			Körner	Mehl	Kleie						
Tier 1.											
12. III.	—	1	8.7	3.0	0.2	11.9	3.2	+5.5	+2.8	1.3	+1.1
14. III.	—	2	10.0	7.5	5.15	22.65	12.6	-2.6	+2.4	1.5	-3.6
15. III.	—	1	10.0	9.0	0.0	19.0	9.0	+1.0	+9.0	1.5	+1.5
16. III.	—	1	10.0	8.8	0.3	19.1	9.1	+0.9	+8.5	1.5	+1.2
22. III.	—	6	16.7	5.0	0.83	22.5	5.8	+10.9	+4.2	2.5	+1.7
30. III.	160	8	15.0	12.5	3.75	31.3	13.7	+1.3	+9.2	2.3	-1.45
6. IV.	126	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. IV.	—	8	3.4	1.4	2.0	7.8	3.4	0.0	-0.6	0.5	-1.5
13. IV.	127	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	12	9.5	2.5	0.0	12.0	2.5	+7.0	+2.5	1.3	+1.3
20. IV.	102	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	7	7	10.7	2.1	2.1	14.9	4.2	+6.5	0.0	1.6	-0.5
Tier 2.											
12. III.	—	1	8.3	0.1	0.2	8.6	0.3	+8.0	-0.1	1.2	+1.0
14. III.	—	2	10.0	7.5	5.15	22.65	12.6	-2.6	+2.4	1.5	-3.6
15. III.	—	1	10.0	5.3	0.1	15.4	5.4	-4.6	+5.2	1.5	+1.4
16. III.	—	1	10.0	6.8	6.7	23.5	13.5	-3.5	+0.1	1.5	-5.2
22. III.	—	5	10.0	0.0	0.83	10.83	0.8	+9.2	-0.8	1.5	+0.7
30. III.	—	8	16.0	3.75	3.75	23.5	7.5	+8.5	0.0	2.4	-1.1
30. III.	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	109	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. IV.	—	8	9.7	5.1	0.0	14.8	5.1	+4.6	+5.1	1.5	+1.5
13. IV.	112	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	12	8.0	3.0	0.2	11.2	3.2	+4.8	+2.8	1.2	+1.0
28. IV.	—	9	11.7	1.1	0.6	13.4	1.7	+10.0	+0.5	1.8	+1.2
29. IV.	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	6	10.8	0.0	0.0	10.8	0.0	+10.8	0.0	1.6	+1.6
11. V.	120	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	10.0	1.1	0.6	11.7	1.7	+8.3	+0.5	1.5	+0.9
20. V.	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. V.	—	11	12.7	3.2	0.0	15.9	3.2	+9.5	+3.2	1.9	+1.9
30. V.	142	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. VI.	—	13	11.2	3.0	0.4	14.6	3.4	+7.8	+2.6	1.7	+1.0
10. VI.	135	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	10	12.2	4.1	0.1	16.4	4.2	+8.0	+4.0	1.8	+1.7
18. VI.	135	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	15.9	3.4	0.7	20.0	4.1	+11.8	+2.7	2.4	+1.7
30. VI.	142	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. VII.	123	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	18	12.5	9.0	0.9	21.5	9.9	+2.6	+8.1	1.9	+1.0
18. VII.	135	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. VII.	—	14	—	10.2	6.9	17.1	—	—	+3.3	—	—

Tabelle LI (Fortsetzung).

Datum	Gewicht	Tage	Menge der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Mehl + Kleie	WK (M + K)	Differenz M-K	Kg 15% des Weizenverbrauches	Kg-Kl WK 15% - Kleie
			Weizen			Gesamt					
			Körner	Mehl	Kleie						
Tier 3.											
12. III.	—	1	5,8	2,7	0,4	8,9	3,1	+2,7	+2,3	0,9	+0,5
14. III.	—	2	10,0	4,75	0,0	14,75	4,7	+5,3	+4,7	1,5	+1,5
15. III.	—	1	10,0	3,7	0,0	13,7	3,7	+6,3	+3,7	1,5	+1,5
16. III.	—	1	8,7	5,3	0,0	14,0	5,3	+3,4	+5,3	1,3	+1,3
22. III.	—	6	7,5	6,1	0,5	14,1	6,6	+0,9	+5,6	1,1	+0,6
30. III.	—	8	10,6	8,75	2,5	21,8	11,2	-0,6	+7,2	1,6	-0,9
30. III.	145	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	—	7	7,0	3,7	0,0	10,7	3,7	0,0	+3,7	1,0	+1,0
Versuch unterbrochen.											
Tier 4.											
12. III.	—	1	8,1	0,3	1,5	9,9	1,8	+6,3	-1,2	1,2	-0,3
14. III.	—	2	10,0	3,65	1,75	15,4	5,4	+4,6	+1,9	1,5	-0,2
15. III.	—	1	10,0	—	0,0	—	—	—	—	1,5	+1,5
16. III.	—	1	9,7	4,5	0,0	14,2	4,5	+5,2	+4,5	1,5	+1,5
22. III.	—	6	16,7	6,7	0,8	24,2	7,5	+9,2	+5,9	2,5	+1,7
30. III.	—	8	12,5	6,25	3,7	22,5	10,0	+2,5	+2,5	1,9	-1,8
30. III.	95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. IV.	—	8	11,4	5,7	0,0	17,1	5,7	+5,7	+5,7	1,7	+1,7
13. IV.	80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	12	11,0	1,7	1,7	14,4	3,4	+7,6	0,0	1,7	0,0
20. IV.	80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28. IV.	—	9	9,5	3,3	1,7	14,5	5,0	+4,5	+1,6	1,4	-0,3
29. IV.	85	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	6	16,4	8,4	7,5	32,3	15,9	+0,5	+0,9	2,5	-5,0
11. V.	92	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	13,3	4,4	2,2	19,9	6,6	+6,7	+2,2	2,0	-0,2
20. V.	80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
24. V.	—	11	11,8	8,2	3,2	23,2	11,4	+0,4	+5,0	1,8	-1,4
30. V.	90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. VI.	—	13	10,4	3,8	0,8	15,0	4,6	+5,8	+3,0	1,6	+0,8
10. VI.	90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	10	14,3	3,4	1,6	19,3	5,0	+9,3	+1,8	1,6	0,0
23. VI.	—	7	14,0	8,0	0,9	22,9	8,9	+5,1	+7,1	2,1	+1,2
30. VI.	95	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
8. VII.	92	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
9. VII.	—	18	10,9	6,9	3,3	21,1	10,2	+0,7	+3,6	1,6	-1,7
Versuch am 9. VII. unterbrochen.											
Tier 5.											
11. III.	—	1	0,0	0,2	0,2	0,4	0,4	-0,4	0,0	0,0	-0,2
14. III.	—	2	10,0	7,5	1,75	19,25	9,2	+0,8	+5,8	1,5	-0,25
15. III.	—	1	10,0	2,7	0,0	12,7	2,7	+7,3	+2,7	1,5	+1,5
26. III.	—	1	10,0	10,0	3,5	23,5	13,5	-3,5	+6,5	1,5	-2,0
22. III.	—	6	16,7	3,3	0,0	20,0	3,3	+13,4	+3,3	2,5	2,5
30. III.	—	8	16,0	11,6	5,4	33,0	17,0	-1,0	+6,2	2,4	-1,0
30. III.	120	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle LI (Fortsetzung).

Datum	Ge- wicht	Tage	Menge der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Mehl + Kleie	WK - (M + K)	Diffe- renz M - K	Kg 15% des Weizen- verbrauches	Kg-Kl WK 15% - Kleie
			Weizen			Gesamt					
			Körner	Mehl	Kleie						
Tier 5.											
7. IV.	—	8	8,6	3,3	0,7	12,6	4,0	+ 4,2	+ 2,6	1,3	+ 0,6
13. IV.	122	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	12	11,0	1,1	2,7	14,8	3,8	+ 7,2	- 4,6	1,6	- 1,1
20. IV.	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28. IV.	—	9	11,7	1,7	0,6	14,0	2,3	- 9,4	+ 1,1	1,8	+ 1,2
29. IV.	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	6	16,7	0,0	0,8	17,5	0,8	+ 15,9	- 0,8	2,5	+ 1,7
11. V.	132	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	13,3	3,3	0,0	16,6	3,3	+ 10,0	+ 3,3	2,0	+ 2,0
24. V.	—	11	11,8	6,4	2,3	20,5	8,7	+ 13,1	+ 4,1	1,87	- 0,5
30. V.	140	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
6. VI.	—	13	11,2	3,8	1,2	16,2	5,0	+ 6,2	+ 2,6	1,7	+ 1,7
10. VI.	130	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	10	12,0	3,0	0,0	15,0	3,0	+ 9,0	+ 3,0	1,8	+ 1,8
18. VI.	133	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	17,1	2,4	0,0	19,5	2,4	+ 13,7	+ 2,4	2,50	+ 2,5
30. VI.	140	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	18	12,5	9,5	0,8	22,8	10,3	+ 2,2	+ 8,7	1,90	+ 1,1
18. VII.	122	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
25. VII.	110	14	—	12,1	2,5	14,6	—	—	—	—	—
25. VII.	†	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
Tier 6.											
12. III.	—	1	5,0	0,1	0,1	5,2	0,2	+ 4,8	0,0	0,7	+ 0,6
14. III.	—	2	10,0	7,5	5,75	23,25	13,2	- 3,2	+ 1,8	1,5	- 4,2
15. III.	—	1	10,0	5,2	0,0	15,2	5,2	+ 4,8	+ 5,2	1,5	+ 1,5
16. III.	—	1	9,5	8,8	0,0	18,3	8,8	+ 0,7	+ 8,8	1,4	+ 1,4
22. III.	—	6	11,7	6,1	0,83	18,7	6,9	+ 4,8	+ 5,3	1,8	+ 1,0
30. III.	—	8	13,7	6,25	6,5	26,5	12,5	+ 1,0	- 0,2	2,1	- 4,4
6. IV.	89	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
7. IV.	—	8	11,0	8,0	0,6	19,6	8,6	+ 2,4	+ 7,4	1,7	+ 1,1
13. IV.	87	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
19. IV.	—	12	10,0	4,5	0,5	15,0	5,0	+ 5,0	+ 4,0	1,5	+ 1,0
20. IV.	82	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
28. IV.	—	9	12,8	1,7	0,6	15,1	2,0	+ 10,3	+ 1,1	1,9	+ 1,3
29. IV.	100	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	6	18,0	10,0	2,5	30,5	12,5	+ 5,5	+ 7,5	2,7	+ 0,2
11. V.	110	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	11,1	6,0	3,3	20,4	9,3	+ 1,8	+ 2,7	1,7	- 1,3
19. V.	—	6	6,4	1,4	2,3	10,1	3,7	+ 3,7	- 0,9	0,9	- 1,4

Versuch am 19. V. unterbrochen.

Es wurde auch untersucht, in welchem Verhältnis der Verbrauch der gemahlene Kleie zu dem in den Weizenkörnern enthaltenen und mit ihnen aufgenommenen Kleianteil steht. Als Fragestellung ergibt sich: Fressen die Tiere mehr Kleie als es 15% des ganzen Weizenkorn-

verbrauches entspricht? (Eigentlich müßte man 20% als Grundlage für die Berechnung annehmen, da außer der Kleie, die in der 15proz. Ausmahlung enthalten, der Abfall, ebenfalls Kleie, 5% beträgt, aber in dem von uns gebrauchten Material nicht mehr vorhanden ist. Beim Festhalten der 15% als Rechenbasis gewinnen die Resultate an Überzeugungskraft.)

Die Antwort entnehmen wir aus Tabelle L. Die Tiere fressen viel öfter mehr von der Gesamtkornkleie als von der ausgemahlenen, und zwar sehen wir sie in den 15 Wägungsperioden 11 mal die erstere der letzteren vorziehen. Noch bezeichnender wird dieses Verhalten, wenn wir den Versuch in 2 Perioden teilen, von denen die erste einen Zeitraum von 19 Tagen, die andere einen solchen von $3\frac{1}{2}$ Monaten umfaßt. Während der ersten Periode geben die Tiere 3 mal der ausgemahlenen Kleie, 3 mal der in Korn enthaltenen den Vorzug. Dagegen nimmt in der zweiten — längeren — Periode 2 mal die ausgemahlene Kleie, hingegen 8 mal die Kornkleie den Vorrang ein.

Diese Differenzen lassen sich durch die Mengenverhältnisse der Kleie noch besser ausdrücken. In jenen Fütterungsperioden, in welchen mehr von der Gesamtkornkleie verzehrt wird, ist der Kleieüberschuß 68 g gegen 26,6 g in der Zeit, da die Tiere mehr von der ausgemahlenen Kleie verbrauchen. Während des ganzen Versuches frißt das Tier also durchaus mehr von der Kleie in Form des Kornanteiles als von der ausgemahlenen. Dieser Unterschied wird noch augenfälliger, wenn wir die Werte getrennt für die erste Periode berechnen. Während der ersten Periode wird in der Fütterungsperiode mit größerem Verbrauch von ausgemahlener Kleie 20,9 g mehr Kleie genossen. Dagegen in denen mit nicht ausgemahlener Kleie nur 10,4 g. Es beträgt also in dem Falle der Mehrverbrauch an ausgemahlener Kleie das Doppelte von der nicht ausgemahlenen. Die Unterschiede werden dadurch für die zweite Periode noch größer: Der Mehrverbrauch an nicht ausgemahlener Kleie ist 57,6 g gegen 5,7 g ausgemahlene.

Diese Beobachtungen können dahin zusammengefaßt werden, daß die Tiere während des ganzen Versuches im allgemeinen durchschnittlich die noch nicht gemahlene Außenschichten des Weizenkornes vor der Kleie bevorzugen. Obwohl sie zu Beginn von der Kleie sicher viel weniger verzehren als von Weizenkorn und Mehl, lernen sie doch in den ersten 3 Versuchswochen, daß sie die nicht ausgemahlene Außenschichten mehr benutzen sollen als die Kleie, an welche neue Erfahrung sie sich während der $3\frac{1}{2}$ Monate des Versuches halten. Nun wollen wir auf diese Erscheinung bei den einzelnen Tieren eingehen. Die Versuche sind diesbezüglich unvollkommen, da wir 3 der Tiere für andere Zwecke entnehmen mußten. Aus Tabelle LII ersieht man, daß die Gesetzmäßigkeit mit 2 Ausnahmen auch für die einzelnen Tiere genau besteht.

Tabelle LII.
Auswahlversuch: Weizenkleie, Weizenmehl, Weizenkörner.

Nr. des Tieres	Anfangsgewicht g	I. Periode Kleieverbrauch		II. Periode Kleieverbrauch		Gesamt- kleieverbrauch		Bemerkungen
		im Korn	gemahlen	im Korn	gemahlen	im Korn	gemahlen	
1	160	14,0	19,2	15,5	15,6	29,5	34,8	† 20. IV.
3	145	6,9	10,2	7,0	0	13,9	10,2	6. IV. Versuch beendet
5	120	16,5	10,7	120,0	18,7	136,5	29,4	† 25. VII.
6	110	9,5	43,6	33,7	20,1	43,2	63,1	19. V. Versuch beendet
4	95	13,2	15,0	32,4	76,1	45,6	91,1	9. VII. Versuch beendet
2	130	6,6	21,4	137,0	0	143,6	21,4	25. VII. Versuch beendet

Aus Tabelle LII ist ersichtlich, daß die Aufnahme von ungemahlener Kleie in der zweiten Periode eigentlich nur bei einem Tier kleiner ist als die von gemahlener. Auch für dieses Verhalten läßt sich eine Erklärung finden, in dem Sinne, als dieses Tier als das kleinste das größte Eiweißbedürfnis hat und es in dem Fall die gemahlene Kleie als konzentrierte Eiweißnahrung benutzt.

Tier 1 bleibt sich im Verbrauch beider Kleiearten in der zweiten Periode gleich, stirbt aber früher als die anderen Tiere. Sonst sehen wir in der zweiten Periode überall die Kleiaufnahme in Form des Weizenkornes größer als in gemahlenem Zustand, welches Verhältnis am deutlichsten bei Tier 2 und 5 ausgeprägt erscheint, bei denen der Verbrauch von gemahlener Kleie nur einen geringen Bruchteil der Weizenkornkleie ausmacht. Tier 5 zeigt schon in der ersten Periode diesen Mehrverbrauch der ungemahlenden Kleie.

Die Gesamtsumme der beiden verzehrten Kleiearten ist wechselnd, doch ist die Differenz bei Tier 1 und 6 sehr gering zugunsten der gemahlenden Kleie, so daß wir — bei einer Rechenbasis von 20% Kleiegehalt — bei Tier 1 einen viel höheren Verbrauch von ungemahlener Kleie, bei Tier 6 kaum einen Unterschied im Verbrauch der beiden Zustandsarten erhalten würden, und die einzige Ausnahme Tier 4 mit seinem geringsten Anfangsgewicht bildet, welche scheinbar mit den größeren Eiweißmengen den geringeren Eiweißgehalt des ganzen Kornes ergänzt. Wir haben auch schon wiederholt beobachtet, daß kleine Ratten viel weniger empfindlich gegen eine größere Eiweißmenge sind als größere (nicht so der Qualität des Eiweißes gegenüber). Der Gesamtmehrverbrauch ist auch genügend erklärt mit der Annahme, daß während der ersten Periode die Tiere noch nicht wählen können. Die mit künstlichen Weizenkörnern ausgeführten Versuche haben die hier vertretene Auffassung vollkommen bestätigt. An jener Stelle wird auch näher auf die Behandlung der Kleifrage eingegangen.

4. Weizenkörner, künstliche¹⁾ Weizenkörner aus Feinmehl, Weizenfeinmehl. Dieser Versuch wurde in der Absicht unternommen, die Abhängigkeit der Nahrungsauswahl der Ratte von ihrer Zugehörigkeit zu den Nagetieren festzustellen, in dem speziellen Fall, zu ermitteln, ob sie aus diesem Grunde sich dem Mehl gegenüber ablehnend verhält. Die Versuche wurden an 5 Tieren ausgeführt. Die Mittelwerte der einzelnen aufgenommenen Nahrungsmittel sind aus Tabelle LIII ersichtlich.

Tabelle LIII.

Auswahlversuch: Weizenkörner, Feinmehl, künstl. Körner aus Feinmehl.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Mittlere Nahrungsaufnahme in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz: Mahl- produkte — Weizen- körner
			Weizenkörner		Mehl	Gesamt		
			natürl.	künstl.				
15. III.	131,8	1	2,4	6,8	4,3	13,5	11,1	+8,7
16. III.	—	1	3,4	6,6	3,3	13,3	9,9	+6,5
17. III.	—	1	3,4	6,2	2,3	11,9	8,5	+5,1
18. III.	—	1	2,2	4,5	1,8	8,5	6,3	+4,1
19. III.	123	1	1,9	6,7	2,1	10,7	8,8	+6,9
21. III.	—	2	2,2	4,8	2,6	9,6	7,4	+5,2
6. IV.	—	—	5,3	5,7	3,9	14,9	9,8	+4,5
12. IV.	—	—	8,3	5,3	3,4	17,0	8,7	+0,4
18. IV.	—	—	5,0	4,0	2,6	11,6	6,6	+1,6
20. IV.	97,5	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	—	4,9	2,3	3,9	11,1	6,2	+1,3
29. IV.	112,0	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	—	9,9	5,0	4,4	19,3	9,4	—0,5
11. V.	123,3	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	—	10,9	2,4	2,5	15,8	4,9	—6,0
20. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	—	10,0	5,8	4,3	20,1	10,1	+0,1
30. V.	149	—	—	—	—	—	—	—
1. VI.	—	—	7,9	4,8	1,9	14,6	6,7	—1,0
8. VI.	—	—	13,5	5,5	4,7	23,7	10,2	—3,2
10. VI.	146,7	—	—	—	—	—	—	—
15. VI.	—	—	10,3	6,6	3,2	20,1	9,8	—0,5
18. VI.	157	—	—	—	—	—	—	—
22. VI.	—	—	13,4	12,2	3,5	29,1	15,7	+2,3
30. VI.	162,6	—	—	—	—	—	—	—
8. VII.	167,0	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	—	6,5	5,0	7,1	21,9	12,1	+5,6

Wir sehen die Tiere zunächst bedeutend mehr von dem künstlichen als von dem natürlichen Weizenkorn fressen, aber doch nach 3 Wochen auf letzteres übergehen. Während das „künstliche“ als Nahrungsmittel

¹⁾ Die künstlichen Weizenkörner wurden in der Weise hergestellt, daß Weizenfeinmehl so viel Wasser zugefügt wurde um einen festen, eben noch knetbaren Teig zu machen, aus dem dann kleine Partikel gerupft und mit der Hand zu einer spindelförmigen Form, also ähnlich der der Weizenkörner gedreht wurden.

vorherrscht, ist der Konsum an Feinmehl viel größer als später, da das Originalkorn die Oberhand gewinnt. Diese Änderung bedeutet wieder ein Zuwenden der Tiere zur nahezu einseitigen Ernährung, denn der

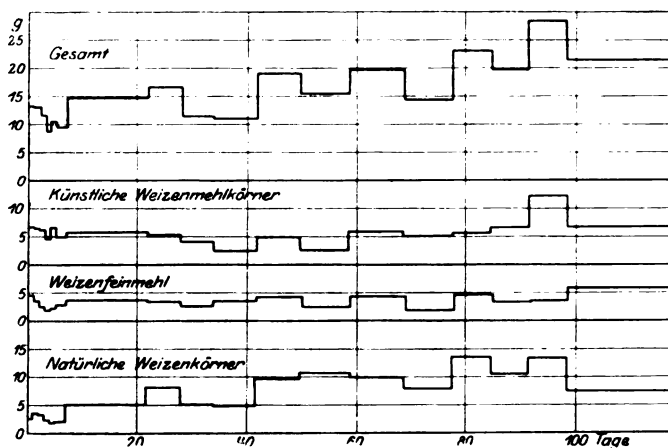


Diagramm II. Auswahlversuch: Weizenfeinmehl, natürl. Weizenkörner, künstl. Weizenkörner.

Verbrauch an Weizenkorn ist viel erheblicher als die Summe der beiden verzehrten Mahlprodukte. Am Ende des Versuches ist wieder eine Zunahme des Mehlkonsums zu konstatieren, analog dem Verlauf des Versuches mit Körnern und Mehl als Fütterung.

In Tabelle LIV sind die von den einzelnen Tieren verbrauchten Nahrungsmittel angegeben. Es ist ersichtlich gemacht, daß im Beginn des Versuches 4 von den 5 eingestellten Tieren mehr künstlichen als natürlichen Weizen verbraucht haben, ein Tier in seinem Verhalten

Tabelle LIV.

Auswahlversuch: Weizenkörner, Feinmehl künstl. Körner aus Feinmehl.
Tier 1.

Datum	Ge- wicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
14. III.	123	—	—	—	—	—	—	—
15. III.	—	1	0,3	8,7	5,5	14,5	14,2	+ 13,9
16. III.	—	1	3,0	10,0	0,3	13,3	10,3	+ 10,3
17. III.	—	1	1,0	10,0	1,0	12,0	11,0	+ 10,0
18. III.	—	1	1,0	9,8	0,0	10,8	9,8	+ 8,8
19. III.	118	1	1,0	10,0	0,5	11,5	10,5	+ 9,5
30. III.	118	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	122	7	9,7	4,3	7,0	21,0	11,3	+ 1,6
12. IV.	—	6	10,4	0,6	0,4	19,4	9,0	-- 1,4
13. IV.	—	—	—	—	—	—	—	—

Tier 2.

Datum	Gewicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
14. III.	113	—	—	—	—	—	—	—
15. III.	—	1	3,2	6,8	2,0	12,0	8,8	+5,6
16. III.	—	1	0,8	7,2	1,0	9,0	8,2	+7,4
17. III.	—	1	5,6	5,0	0,0	10,6	5,0	-0,6
18. III.	—	1	3,0	7,0	1,0	11,0	8,0	+5,0
19. III.	118	1	2,0	8,0	1,0	11,0	9,0	+7,0
30. III.	123	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	122	7	7,1	4,6	0,4	12,1	5,0	-2,1
12. IV.	—	6	8,0	4,6	1,4	14,0	6,0	-2,1
13. IV.	116	—	—	—	—	—	—	—
18. IV.	—	6	4,6	4,0	0,7	9,3	4,7	+0,1
20. IV.	82	—	—	—	—	—	—	—
23. IV.	80	5	6,0	1,0	6,0	13,0	7,0	+1,0

Tier 3.

Datum	Ge- wicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
14. III.	148	—	—	—	—	—	—	—
15. III.	—	1	0,6	10,0	3,0	13,6	13,0	+ 12,4
16. III.	—	1	3,0	10,0	0,3	13,3	10,3	+ 7,3
17. III.	—	1	0,5	10,0	0,0	10,5	10,0	+ 9,5
18. III.	—	1	0,0	0,5	0,0	0,5	10,5	+ 0,5
19. III.	142	1	0,0	10,0	0,5	10,5	0,5	+ 10,5
30. III.	143	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	144	7	5,0	9,3	1,1	15,4	10,4	+ 5,4
12. IV.	—	6	8,6	8,0	2,2	18,8	10,2	+ 1,6
13. IV.	134	—	—	—	—	—	—	—
18. IV.	—	6	4,6	5,4	0,3	13,0	5,7	+ 1,3
20. IV.	107	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	8	4,8	0,9	4,6	10,3	5,5	+ 0,7
29. IV.	110	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	8	17,0	4,0	2,5	23,5	6,5	— 11,0
11. V.	120	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	130	9	8,8	0,0	0,0	8,8	0,0	— 8,8
20. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	10,0	5,5	4,5	20,0	10,0	0,0
30. V.	145	—	—	—	—	—	—	—
1. VI.	—	9	7,2	5,0	1,1	13,3	6,1	— 1,1
8. VI.	—	7	12,9	5,7	6,4	25,0	12,1	— 0,8
10. VI.	145	—	—	—	—	—	—	—
15. VI.	—	7	7,7	6,0	4,3	18,0	10,3	+ 2,6
18. VI.	150	—	—	—	—	—	—	—
22. VI.	—	7	6,3	13,9	2,9	23,1	16,8	+ 10,3
30. VI.	157	—	—	—	—	—	—	—
8. VII.	159	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	19	4,4	3,4	5,5	13,3	8,9	+ 5,9
18. VII.	147	—	—	—	—	—	—	—

Tier 4.

Datum	Ge- wicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
14. III.	135	—	—	—	—	—	—	—
15. III.	—	1	7,5	2,0	4,5	14,0	6,5	—1,0
16. III.	—	1	10,0	0,0	4,2	14,2	4,2	—5,8
17. III.	—	1	10,0	0,5	0,0	10,5	0,5	—9,5
18. III.	—	1	7,0	0,0	0,0	7,0	0,0	—7,0
19. III.	110	1	6,5	0,0	0,5	7,0	0,5	—6,0
30. III.	103	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	102	7	7,1	1,3	6,6	15,0	7,6	+0,5
12. IV.	—	6	7,6	1,6	6,6	15,8	8,2	+0,6
13. IV.	104	—	—	—	—	—	—	—
18. IV.	—	6	4,3	6,7	0,5	1,5	7,2	+2,9
20. IV.	100	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	8	4,8	5,0	0,6	10,4	5,6	+0,8
29. IV.	105	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	9	5,6	6,9	3,8	16,3	10,7	+5,1
11. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	11,3	3,8	5,0	20,1	5,8	—5,3
20. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	11,0	6,5	5,0	22,5	11,5	+1,5
30. V.	183	—	—	—	—	—	—	—
1. VI.	—	9	8,3	5,0	3,1	16,4	8,1	—0,2
8. VI.	—	7	12,9	5,7	5,7	24,5	11,6	—1,3
10. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—
15. VI.	—	7	11,6	8,0	2,3	21,9	10,3	—1,3
18. VI.	174	—	—	—	—	—	—	—
22. VI.	—	7	16,9	13,6	0,0	30,5	13,6	—3,3
30. VI.	183	—	—	—	—	—	—	—
8. VII.	175	—	—	—	—	—	—	—
11. VII.	—	19	4,8	5,0	7,7	17,5	12,7	+7,9
18. VII.	161	—	—	—	—	—	—	—

Tier 5.

Datum	Gewicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
14. III.	140	—	—	—	—	—	—	—
15. III.	—	1	0.3	6.5	6.7	13.5	13.2	+ 12.9
16. III.	—	1	0.3	5.7	10.0	16.0	15.7	+ 15.4
17. III.	—	1	0.0	5.5	10.0	15.5	15.5	+ 15.5
18. III.	—	1	0.2	5.0	8.0	13.2	15.0	+ 12.8
19. III.	128	1	0.0	5.5	8.0	13.5	15.5	+ 15.5
30. III.	128	—	—	—	—	—	—	—
6. IV.	136	18	8.0	9.3	4.3	21.6	13.7	+ 5.7
12. IV.	—	6	7.0	3.6	6.6	17.2	19.2	+ 3.2
13. IV.	124	—	—	—	—	—	—	—
18. IV.	—	6	7.0	1.0	4.3	12.3	5.3	— 1.7
20. IV.	110	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	8	4.3	3.8	3.1	11.2	6.9	+ 1.6

Tabelle LIV (Fortsetzung).

Tier 5.

Datum	Ge- wicht g	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz
			Weizenkörner		Feinmehl	Gesamt		
			natürlich	künstlich				
29. IV.	120	—	—	—	—	—	—	—
4. V.	—	8	7,1	4,0	6,9	18,0	10,9	+3,8
11. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	9	12,5	3,5	2,5	18,5	6,0	-6,5
20. V.	130	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	9,0	5,5	3,5	18,0	9,0	0,0
30. V.	143	—	—	—	—	—	—	—
1. VI.	—	9	8,3	4,4	1,7	14,4	6,1	-2,2
8. VI.	—	7	14,6	5,0	2,1	21,7	7,1	-7,5
10. VI.	150	—	—	—	—	—	—	—
15. VI.	—	—	—	—	—	—	—	—
18. VI.	147	—	—	—	—	—	—	—
22. VI.	—	14	16,9	9,0	7,7	33,6	16,7	-0,2
30. VI.	148	—	—	—	—	—	—	—
7. VII.	—	16	10,3	6,6	8,1	25,0	14,7	+4,4

Versuch unterbrochen.

von dieser Norm abwich, insofern als es nur eine Zeitlang das künstliche dem natürlichen Weizenkorn vorzog, aber bald wieder zum natürlichen Korn überging. In bezug auf das Verhalten geht sehr augenfällig ihre Vorliebe zu Beginn und eine Zeitlang während einer späteren Periode für weiße Mahlprodukte, die sie dem natürlichen Korn vorziehen, hervor, es gehen jedoch alle Tiere ganz regelmäßig wieder zum natürlichen Weizenkorn über.

Auf Grund dieser Beobachtungen läßt sich feststellen, daß nicht nur die Ratten als Nagetiere den Weizen in seinem ursprünglichen Zustand bevorzugen, sondern daß irgendein Bestandteil oder irgendeine Eigenschaft des Kornes ihnen etwas bietet, was sie weder im Mehl noch in der Kleie finden können. Die Tiere machen auch unbedingt einen Unterschied zwischen Mehl und künstlichem Weizen, den sie jenem merklich vorziehen, obwohl der Abstand zwischen diesen beiden weitaus geringer ist als jener zwischen natürlichen Körnern und deren Mahlprodukten.

5. Weizenkörner, künstliche Körner aus Ganzmehl, Ganzmehl. In diesem Versuch wurden, da er nur als Kontrolle zu dem vorhergehenden gedacht war, 2 Tiere verwendet, die aber in jeder Hinsicht ein genau gleiches Verhalten zeigen. In Tabelle LV sind die Mittelwerte der aufgenommenen Nahrung in Tabelle LVI, die für die einzelnen Tiere ermittelten Werte verzeichnet. Danach fressen beide Tiere durchwegs mehr natürliche Weizenkörner als nachgeahmte oder Mehl. Die Einzelwerte geben eine vollständige Bestätigung dieser

Tabelle LV. Auswahlversuch: Weizenkörner, Ganzmehl, künstliche Körner aus Ganzmehl.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Mittlere Nahrungsaufnahme (Mengen in g)				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz: Mahl- produkte Weizen- körner
			Weizenkörner		Mehl	Gesamt		
			natür- liche	künstl. (Gleich- mehl)				
16. III.	130	—	—	—	—	—	—	—
17. III.	—	1	8,0	4,7	1,25	13,9	5,95	-2,0
18. III.	—	1	10,0	5,0	3,5	18,5	8,5	-1,5
19. III.	—	1	10,0	5,5	6,25	21,8	11,75	+1,8
23. III.	—	4	9,8	3,8	3,6	17,2	7,4	-2,4
30. III.	136,5	7	13,2	6,2	3,3	22,9	9,5	-3,3
6. IV.	127,5	7	9,5	6,0	3,5	19,0	9,5	0,0
13. IV.	114,5	—	—	—	—	—	—	—
15. IV.	—	9	7,4	4,0	2,1	13,5	6,1	-1,3
19. IV.	—	4	7,2	2,0	1,9	11,1	3,9	-3,3
20. IV.	97,0	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	7	7,5	5,0	1,5	14,0	6,5	-1,0
28. IV.	115,0	—	—	—	—	—	—	—
6. V.	—	10	10,7	3,8	1,8	16,3	5,6	-4,1
11. V.	125,0	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	7	15,0	1,9	1,4	18,3	3,3	+11,7
20. V.	122,5	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	13,9	1,6	1,1	16,6	2,7	-12,2
30. V.	135	—	—	—	—	—	—	—
31. V.	—	8	8,9	2,5	1,0	12,4	6,5	-2,4
10. VI.	130	10	9,5	2,0	1,0	12,5	3,0	-6,5
17. VI.	—	7	12,4	2,7	1,7	16,8	4,4	-8,0
18. VI.	118,5	—	—	—	—	—	—	—
25. VI.	—	8	13,5	4,3	1,5	19,3	5,8	-7,7
30. VI.	140	—	—	—	—	—	—	—
9. VII.	—	17	10,9	5,9	1,6	18,4	7,5	-3,4

Tabelle LVia. Auswahlversuch: Weizenkörner, Ganzmehl, künstliche Körner aus Ganzmehl.

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Tägliche Nahrungsaufnahme in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz: Mahl- produkte - Weizen- körner
			Weizenkörner		Mehl	Gesamt		
			natür- liche	künstl. (Gleich- mehl)				
16. III.	150	—	—	—	—	—	—	—
17. III.	—	1	6,0	4,0	1,5	11,5	5,5	-0,5
18. III.	—	1	10,0	0,0	5,0	15,0	5,0	-5,0
19. III.	—	1	10,0	1,0	10,0	21,0	11,0	+1,0
23. III.	—	4	9,5	2,5	4,8	16,8	7,3	-2,2
36. III.	150	7	13,0	7,5	2,9	23,4	10,4	-3,4
6. IV.	158	7	14,0	9,0	2,0	25,0	11,0	-3,0
13. IV.	122	—	—	—	—	—	—	—
15. IV.	—	9	7,0	4,0	1,6	12,6	5,6	-1,4
19. IV.	—	4	7,4	4,0	1,6	13,0	5,6	-1,8
20. IV.	102	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	7	7,7	4,0	1,4	13,1	5,4	-2,3

Datum	Gewicht g	Tage der Fütterungs- periode	Tägliche Nahrungsaufnahme in g				Gesamt- menge der Mahl- produkte	Differenz : Mahl- produkte - Weizen- körner
			Weizenkörner		Mehl	Gesamt		
			natür- liche	künstl. (Gleich- mehl				
28. IV.	130	—	—	—	—	—	—	
6. V.	—	10	10,0	4,5	2,0	16,5	6,5	—3,5
11. V.	140	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	7	15,7	0,9	0,0	16,6	0,9	—14,8
20. V.	145	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	14,5	0,0	1,1	15,6	1,1	—13,4
30. V.	160	—	—	—	—	—	—	—
31. V.	—	8	8,8	4,4	0,0	13,2	4,4	—4,4
10. VI.	150	10	9,4	4,0	0,0	13,8	4,0	—5,0
17. VI.	—	7	11,5	5,4	0,3	17,2	5,7	—5,8
18. VI.	148	—	—	—	—	—	—	—
25. VI.	—	8	14,2	8,2	1,0	23,4	9,2	—5,0
30. VI.	148	—	—	—	—	—	—	—
9. VII.	149	14	10,9	5,9	1,6	18,4	7,5	—2,4
18. VII.	144	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle LVIb. Auswahlversuch: Weizenkörner — Ganzmehl — künstliche Körner aus Ganzmehl.

Datum	Gewicht g	Tag der Fütterungs- periode	Tägliche Nahrungsaufnahme in g				Gesamt- menge der Mahlpro- dukte	Differenz: Mahlpro- dukte - Weizen- körner
			Weizenkörner		Ganz- mehl	Ge- samt		
			natür- lich	künst- lich				
16. III.	110	—	—	—	—	—	—	
17. III.	—	1	10,0	5,4	1,0	16,4	6,4	-3,6
18. III.	—	1	10,0	10,0	2,0	22,0	12,0	+2,0
19. III.	—	1	10,0	10,0	2,5	22,5	12,5	+2,5
23. III.	—	4	10,0	4,8	2,4	17,2	7,2	-2,8
30. III.	115	7	13,6	5,0	3,7	22,3	8,7	-4,9
6. IV.	105	7	5,0	3,0	5,0	13,0	8,0	+3,0
13. IV.	106	—	—	—	—	—	—	—
15. IV.	—	9	7,8	4,0	2,6	14,4	6,6	-2,2
19. IV.	—	4	7,0	0,0	1,3	8,3	1,3	-5,7
20. IV.	92	—	—	—	—	—	—	—
26. IV.	—	7	7,5	0,5	1,5	14,0	6,5	-1,0
28. IV.	100	—	—	—	—	—	—	—
6. V.	—	10	11,5	3,8	1,8	16,3	5,6	-5,9
11. V.	110	—	—	—	—	—	—	—
13. V.	—	7	15,0	1,9	1,4	18,3	3,3	-11,7
20. V.	100	—	—	—	—	—	—	—
23. V.	—	10	13,9	1,6	1,1	16,6	2,7	-11,2
30. V.	110	—	—	—	—	—	—	—
31. V.	—	8	8,9	2,5	1,0	12,4	3,5	-5,4
10. VI.	110	10	9,4	2,0	1,0	12,4	3,0	-6,4
17. VI.	—	7	12,4	2,7	1,7	16,8	4,4	-8,0
18. VI.	97	—	—	—	—	—	—	—
25. VI.	—	8	13,5	4,3	1,5	19,3	5,8	-7,7
30. VI.	122	—	—	—	—	—	—	—
9. VII.	119	14	10,9	5,9	1,6	18,4	7,5	-3,4
18. VII.	105+	—	—	—	—	—	—	—

Beobachtung, indem die einzige Ausnahme in einer einmaligen dem natürlichen Weizenkorn gegenüber erhöhten Aufnahme des künstlichen von seiten des Tieres 2 besteht. Der Gesamtverbrauch von Mahlprodukten (Mehl + künstl. Weizen) ist immer bedeutend geringer als der von natürlichem Weizen, so daß wir einen dem vorher beschriebenen Versuch mit Weizen entgegengesetzten Ablauf feststellen können; hier der viel höhere Verbrauch von natürlichem Weizen, dort die Bevorzugung der Feinmehlprodukte. Darin können wir einen neuerlichen und vollständigen Beweis für die Annahme sehen, daß ein Bestandteil oder eine Eigenschaft der ausgemahlten Kleie den Tieren unerwünscht ist und daß wir Menschen nicht ohne Ursache und nicht auf ein leeres Vorurteil hin die Kleie verschmähen. Diese Aversion gilt aber nur der schon ausgemahlten Kleie, denn das Tier schätzt das Originalweizenkorn

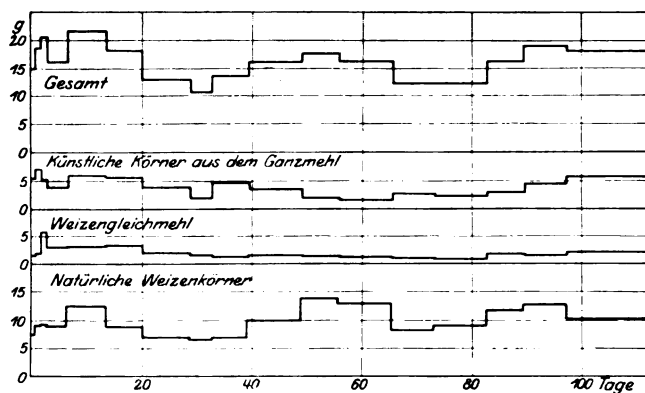


Diagramm III. Auswahlversuch: Weizengleichmehl, künstl. Körner, natürl. Weizenkörner.

insbesondere beim Fortschreiten des Versuches immer höher ein, selbst im Vergleich zum Feinmehl.

An diesen Versuchen können wir zweierlei biologische Veränderungen des Weizenkornes unabhängig von den mechanischen beobachten:

1. Die Veränderung der Kleie durch das Mahlen,
2. die Unvollkommenheit des Weizenfeinmehles gegenüber dem Weizenkorn.

Daß eine Veränderung der Kleie stattgefunden haben muß, folgern wir aus diesen Tatsachen:

a) Die Tiere fressen weniger von der gemahlten Kleie als von dem noch ungemahlten Kleianteil des Weizenkornes (Weizenkörner-Mehl-Kleieversuch).

b) Die Tiere ziehen — wenigstens eine Zeitlang — das künstliche, aus Feinmehl bereite Korn dem natürlichen vor, dieses hinwieder dem aus gleichhaltigem Mehl hergestellten.

Daß die Kleie infolge des Mahlens minderwertig wird, ist in einem

scheinbaren Widerspruch mit den Befunden von Aron¹⁾, nach denen wässrige Kleieextrakte imstande sind eine unvollkommene Nahrung biologisch zu ergänzen, ihr eine wachstumsfördernde Wirkung zu verleihen. Danach scheint jener Bestandteil der Kleie, welcher unzweckmäßig wirkt und von Tier und Mensch entsprechend wenig gewertet wird, nicht wasserlöslich zu sein. Auch die Versuche von Mac Collum²⁾ scheinen darauf hinzuweisen. Er hat festgestellt, daß die Weizenkeimlinge giftig sind und die Giftkomponente fast vollkommen durch Äther extrahierbar. Unsere Versuche machen es aber wahrscheinlich, daß nicht die Keimlinge selbst „giftig“ sind, sondern es erst durch das Mahlen werden. Diese Annahme wird auch von der Beobachtung gestützt, daß die Ratten mit Vorliebe — man könnte schon sagen mit Bedacht — das keimlingenthaltende Ende auffressen, welche Tatsachen von Osborne und Mendel³⁾ beschrieben und von uns bestätigt wurden.

Besonderes Interesse kommt diesen Untersuchungen durch den Umstand zu, daß sie Probleme der Praxis berühren⁴⁾. Die große Beliebtheit, die unter den Kleiebroten besonders die geschroteten (Grahambrot, Pumpernickel) besitzen, könnte darauf zurückzuführen sein, daß das Schrot die Kleie nicht so ungünstig verändert wie das Mahlen (Oxydation). Auch wurde empfohlen, den Brotteig nicht mit Wasser, sondern mit wässrigen Kleieextrakten zu bereiten, wodurch — nach den oben besprochenen Versuchen — nicht nur die Cellulose, sondern auch andere, nicht gut schmeckende Anteile der Kleie ausgeschaltet würden. Die so zubereiteten Brote werden wiederholt als dem Geschmack sehr zusagend beschrieben.

Es lassen sich auch einige chemische Daten zur Begründung der oben-erwähnten biologischen Unterschiede heranziehen. Wenn die Kleie durch Sauerstoff leichter veränderlich ist als das Korninnere, dann muß es auch mehr reduzierende Substanzen enthalten. Diese Folgerung muß besonders auch für die aus beiden Samenteilen hergestellten Öle gelten. Dieser Unterschied ist längst bekannt und wird in den Jodzahlen des Weizenöles (aus den Weizenkeimlingen) und des Weizenmehlöles repräsentiert.

115,17 [de Negri⁵⁾]

Jodzahlen von Weizenöl . . 115,64 [Frankfurter und Harding⁶⁾]

Jodzahlen von Weizenmehlöl 101,5 [Spaeth⁷⁾].

¹⁾ Aron, Monatshefte f. Kinderheilkunde. 1914.

²⁾ Mac Collum, The Journ. of Biol. Chem. **25**, 105.

³⁾ Osborne u. Mendel, The Journ. of Biol. Chem. **41**, 27.

⁴⁾ Eine zusammenfassende Darstellung über die Bedeutung der Kleie und ihre Ausnützbareit sowie über die Wertigkeit verschiedener neuer Mahlverfahren finden sich bei Rubner, Neumann, Noorden-Salomon u. a.

⁵⁾ De Negri, Chemiker-Zeit. **22**, 976. 1898.

⁶⁾ Frankfurter und Harding, Americ. Journ. of chem. soc. **21**, 758 (zit. Abderhalden, ebendort).

⁷⁾ Spaeth, Zeitschr. f. Unters. d. Nahrungs- u. Genußm. **3**, 171. 1896.

Besonders interessant ist, daß ganz ähnliche Unterschiede zwischen den verschiedenen Cerealien vorhanden sind und damit eine weitgehende Analogie zwischen Mehl- und Körnerverbrauch (Weizen) einerseits, andererseits zwischen Gerste-Roggen-Weizenverbrauch in unseren Tierversuchen. Demnach gehen die Tiere zu jenem Stoff über, dessen Jodzahl höher ist und damit seine reduzierenden Wirkungen stärker. Zum Vergleich sind die Jodzahlen der aus den einzelnen Samenölen hergestellten Fettsäuren im folgenden zusammengestellt.

Jodzahl von Gerstenölsäuren	63,5 [R. Meyer ¹⁾]
Jodzahl von Roggenölsäuren	113 (R. Meyer)
Jodzahl von Weizenölsäuren	123,3 (de Negri, l. c.).

Nicht nur die Jodzahlen, auch die chemische Zusammensetzung der Cerealienöle gibt Anhaltspunkte für diese Auffassung. (Die Analysen von König nach Klotz, l. c., S. 26.)

	C	H	O
Gerste . .	76,27	11,78	11,95
Roggen . .	76,71	11,79	11,50
Weizen . .	77,19	11,79	10,84

Schon diese Zahlen zeigen, daß das Gersteöl mehr Sauerstoff und weniger C und H enthält als Roggen und Weizen. Wir haben nun die Atomzahlen aus dieser Analyse berechnet. (Auf O₆ für Glycerinester.)

	C	H	O
Gerste . .	51,0	93,6	6
Roggen . .	52,8	96,6	6
Weizen . .	57	105,0	6

Aus diesen Zahlen ersieht man, daß die Analysen von König sehr gut der theoretisch erwarteten Zusammensetzung entsprechen. Zunächst müssen wir aus diesen Komplexen den Glyceryl- und Carbonylrest eliminieren, dann verbleiben:

	C	H	O
Gerste . .	45	88,6	--
Roggen . .	46,8	91,6	---
Weizen . .	51	100	---

Demnach würden sich die 3 Öle zunächst durch die Länge ihrer Kohlenstoffketten unterscheiden, und zwar enthält

Gerste	3	Palmitinsäureketten
Roggen	{ 2	Palmitin- } Säureketten
Weizen	{ 1	Stearin- }
	3	Stearinsäureketten.

Keines der genannten Öle ist aber gesättigt (wofür schon ihr flüssiger Zustand zeugt). Die folgenden Zahlen geben an, wieviel H-Atome die Öle enthalten müßten, um gesättigt zu sein, und wie groß die Differenz zwischen diesen und den effektiven Werten ist.

¹⁾ R. Meyer, Chemiker-Zeit. **27**, 958. 1903 (zit. nach Abderhalden).

	berechnet	tatsächlich H.
Gerste . . .	93	89
Roggen . . .	97	92
Weizen . . .	105	100.

Woraus wieder hervorgeht, daß die Gerste um eine Doppelbindung weniger enthält als Roggen und Weizen. Den Unterschied zwischen Roggen und Weizen können diese Zahlen allerdings nicht festlegen.

Aus diesen vergleichenden Betrachtungen erhellt erst recht die Empfindlichkeit des Versuchstieres als Indikator für Wirkungen der Nahrungsmittel, die wieder mit Hilfe der Chemie untersucht, geprüft und bestätigt werden kann.

Insbesondere benötigt der jugendliche Organismus leicht oxydable Substanzen (fettlöslicher Nährfaktor: Gerstenmalz). Nach Abschluß der heftigsten Wachstumsepoche scheint die leichte Oxydierbarkeit der Fette weiter eine wichtige Bedingung zu sein, vielleicht braucht der alternde Organismus sogar mehr oder stärker wirksame Agentien davon, und da finden wir eben Weizen die Stelle der Hauptnahrung einnehmen. Für diese Auffassung sprechen auch Versuche von Aron (l. c.), nach denen größere Ratten von derselben Buttermenge kürzer lebten als jüngere. Von besonderem Interesse wird daher die Untersuchung des Hafers als Endglied der Gerstereihe — im Sinne von Klotz — sein, vornehmlich im Zusammenhang mit der menschlichen Diabetes. Hierzu sei schon jetzt bemerkt, daß wir bei Hafer auch mit einem wesentlich anderen Verhalten der Fettsäureketten (Erucasäure und Säuren mit kurzen Ketten) rechnen müssen.

Diese Auffassung findet ja auch eine Stütze in unseren Versuchen über die lebensverlängernde Wirkung der Fette auf die „Stärketiere“. Die Klotzschen Versuche lassen sich schon heute viel eher durch eine Korrelation der Nahrungsstoffe erklären, als durch reine Kohlenhydratwirkung, wobei den Fetten eine ausschlaggebende Rolle zukommen muß.

Die Unvollkommenheit des Weizenfeinmehles gegenüber dem Weizenkorn erhellt aus dem Umstand, daß die Tiere mit der Zeit von dem künstlichen Feinmehlkorn zu dem natürlichen Vollkorn übergehen. Wenn wir auch heute noch nicht imstande sind, diesen Erscheinungen auf den Grund zu gehen und daraus praktische Folgerungen abzuleiten, ist es doch immerhin wichtig und interessant, festzustellen, daß die Tiere den im natürlichen Zustand befindlichen Weizenkorn künstlichen Mahlprodukten vorziehen. Die Analogie mit dem menschlichen Verhalten geht so weit, daß die Tiere sich im Beginn des Versuches, deutlicher gesagt: solange sie noch keinen Nahrungsmittelbestandteil qualitativ entbehren, zum Genuß des Feinmehles in Form der künstlichen Körner verleiten lassen, um aber später nahezu ausschließlich

den natürlichen Weizen als Nahrung zu benützen. Der prä mortal höhere Mehlverbrauch in einigen Versuchen (bei Weizen) ist möglicherweise darauf zurückzuführen, daß, wie schon gesagt, die ganz jungen Tiere die Arbeit, die das Kauen der Körner beansprucht, nicht leisten konnten.

Nach Abschluß unserer Versuche und Erscheinen meiner vorläufigen Mitteilung in der Wiener klinischen Wochenschrift ist eine Arbeit von Pearl und Fairschild¹⁾ erschienen, nach welcher Hühner ganz ähnlich wählen wie die Ratten, nämlich die Körner den Mehlen vorziehen. Auch diese Autoren werten die freigewählte Nahrung höher als die nach der Eiweiß- und Calorienlehre aufgestellten Normen. Es ist eben Aufgabe der weiteren Forschung auf Grund der instinktmäßigen Auswahl — bei Kontrolle der erzeugten Qualität — feste Nahrungsnormen aufzustellen.

Die Versuche mit den Cerealien zeigen uns, daß die Tiere auf die künstlichen — durch den Menschen hervorgebrachte — Differenzen, aber auch auf die Unterschiede zwischen den einzelnen Getreidearten im Beginn des Versuches nicht so regelmäßig reagieren, wie in seinem späteren Verlaufe. Um dieses Verhalten zu demonstrieren, mögen die Einzelfälle rekapituliert werden:

Künstliche Veränderung der Nahrung:

1. Mehl — ganzes Korn, 2. Kleie — ungemahlener in der Außenschicht repräsentierter Kornanteil, 3. künstliches Weizenfeinmehlkorn — natürliches Korn.

Cerealienarten:

1. Mais — Weizen, 2. Gerste — Roggen — Weizen, 3. Roggen — Gesamtnahrungsaufnahme, 4. Übergang zur einseitigen Ernährung.

Alle diese Versuche zeigen, daß die Tiere mit der Zeit bei geringen Veränderungen, die Eigenschaften der Nahrung — man könnte sagen — erkennen oder lernen. Diese Auffassung steht in Widerspruch zu dem im Leguminosenversuch Beobachteten, wonach gleich im Versuchsbeginn eine Wertung der vorgesetzten Nahrungsmittel, sogar nach ihrem Lebenserhaltungswert sich bemerkbar macht. Diese Versuche lassen noch keine restlose Klärung dieses Gegensatzes zu. Es soll nur auf die unleugbare Verschiedenheit in der Wirkungsart der Leguminosen gegen jene der Cerealien hingewiesen werden und darauf, daß auch die Symptome infolge der Leguminosennahrung viel akuter als bei den hier behandelten Cerealien auftreten.

Der große Unterschied zwischen Bohnen und den anderen Leguminosen erklärt die entschiedene Haltung der Tiere in der Auswahl, wogegen die hier auftretenden feineren Schwankungen auch den feineren Verschiedenheiten im Lebenserhaltungswert entsprechen.

¹⁾ Pearl und Fairschild, Americ. Journ. of hyg. **1**, Nr. 3, S. 253—277. zit. nach Ber. üb. d. ges. Phys. **9**, 368.

Die Untersuchung des Sojamehles ¹⁾.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 1 Abbildung im Text.

Seitdem Haberlandt im Jahre 1878 die Einführung der Sojabohne nach Europa propagiert hat, wurden sehr viele Versuche unternommen, diese — ihrer chemischen Zusammensetzung nach — wundervolle Pflanze als Nahrungsmittel auch der weißen Rasse dienstbar zu machen. Alle diese Bemühungen blieben aber ohne Erfolg aus Mangel an einer biologischen Untersuchung der Sojabohne. Das Ideal, das diese Pflanze in bezug auf ihren Eiweiß- und Caloriengehalt darstellt, wird von anderen biologischen Eigenschaften nicht erreicht, eine Vermutung, die aber erst geprüft werden mußte.

In Japan und China, wo die Sojabohne ein seit Jahrtausenden verbreitetes Nahrungsmittel ist, liegt ihre Verarbeitung zu Ernährungszwecken in den Händen einer ausgedehnten Kleinindustrie, die ihre Erfahrungen, wie bei uns etwa die Bäcker, die Brauer usw., von Generation zu Generation überträgt. Nachdem aber auch jene Nahrungsmittel dem europäischen Geschmack nicht zusagen, kam die Sojabohne in diesen Formen auch nicht zur Verbreitung in Europa. Das gleiche — negative — Resultat hatten Versuche von seiten der europäischen Nahrungsmittelindustrie, die Sojabohne entsprechend zu verwerten. Dieser Mißerfolg ist nicht verwunderlich, da unsere Nahrungsmittelindustrie mit ihrer teils nur praktischen, teils der Chemie entlehnten Requisitur gerade nur bestimmen kann, wie man ein neues Nahrungsmittel herstellen soll, aber nicht beurteilen, wann das eine gut, das

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig und St. Deutsch ausgeführt.

andere schlecht ist. An diesen Verhältnissen konnte bis jetzt auch die Ernährungslehre nichts ändern. Alles das sind Gründe, die uns bestimmen mit Hilfe der neuen Methode an die Lösung dieser Frage heranzutreten. Es muß betont werden, daß diese Versuche, wie es ja Laboratoriumsversuchen entspricht, in erster Linie das Ziel hatten, die Verhältnisse in bezug auf das Tier zu klären und daraus erst irgendwelche, für den Menschen praktische Folgerungen abzuleiten.

Gute Sojabohnen enthalten rund 40% Eiweiß, 20% Fett und daneben leicht wasserlösliche Kohlenhydrate. Schon diese Eigenschaften lassen sie für Spezialnahrungsmittel prädestiniert erscheinen, denn bekannterweise wollen die meisten neuen Präparate ihr Auf-tauchen dadurch rechtfertigen, daß sie eben keine Stärke, sondern lösliche Kohlenhydrate enthalten.

Es ist aber zweifellos verfehlt, die Bestrebungen der Nahrungsmittelindustrie, Spezialpräparate herzustellen, von wissenschaftlicher Seite damit zu unterstützen, daß man die Soja ihren Zwecken ausliefert. Die Soja muß vor allen Dingen ein Volksnahrungsmittel werden wie die Kartoffel und erscheint auch zu dieser Rolle — wenn ihre biologischen Mängel erst ausgeschieden sind — berufen.

Das Sojaöl ist reich an lecithinhaltigen Lipoiden; Osborne und Mendel und Daniels sprechen der Sojabohne eine erhebliche Wirksamkeit des fettlöslichen Nährfaktors zu und auch einen besonders hohen Wert ihren Eiweißkörpern.

Die Bemühungen, aus der schlechtschmeckenden Sojabohne dem Geschmack zusagende Nahrungsmittel herzustellen, hat die Nahrungsmittelindustrie zur Anwendung folgender Hauptverfahren geführt:

1. Extraktion,
2. Rösten.

Mit Hilfe jeder dieser Methoden ist es möglich, aus der Sojabohne wohlschmeckende und auch haltbare Mehle herzustellen, so daß beide Verfahren im großen durchgeführt werden.

Wir haben zu unseren Versuchen beide Mehlsorten und das gewöhnliche Sojamehl verwendet und dabei beobachtet, daß von ersterem junge Ratten nur ein paar Tage lang, vom unpräparierten Mehl 1 Monat lang leben konnten, wobei bemerkt werden muß, daß das einfach gemahlene Mehl biologisch schlecht ist, wie noch später gezeigt werden soll.

An dieser Stelle geben wir nicht den ganzen Verlauf der betreffenden Versuche wieder, sondern nur die Resultate, die ein Vergleichsversuch, angestellt mit einem bis heute als sehr gut befundenen Sojamehl, ganzen Sojabohnen und deren einfach gemahlenem, unbehandeltem Mehl gezeitigt hat. 6 Tiere erhielten zur Auswahl vorgelegt:

1. Rohe Sojabohnen,
2. gewöhnliches Sojamehl,
3. neues Sojamehl¹⁾ (bezeichnet Sojamehl 0).

Für ausgewachsene Ratten ist die Sojabohne infolge ihres sehr großen Eiweißgehaltes keine zweckmäßige Nahrung, um so interessanter und beweisender wird dieser Versuch, da die Tiere die Nahrungsbestandteile viel sorgfältiger auswählen müssen. In diesem Falle weichen wir von der bis jetzt festgehaltenen Art der Beschreibung ab, da die Mittelwerte in diesem Versuche kein besonderes Interesse verdienen. Die von den einzelnen Tieren verbrauchten Nahrungsmengen sind in Tabelle LVIIa und LVIIb mitgeteilt, und zwar in ersterer die für die Männchen, in der anderen die für die Weibchen ermittelten Werte.

Tabelle LVIIa.
Auswahlversuch: Sojamehl, Sojamehl 0, Sojabohnen.

Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag ver- zehnten Nahrungsmittel in				Datum	Ge- wicht	Tage	Mengen der von den ein- zelnen Tieren pro Tag ver- zehnten Nahrungsmittel in			
			g							g			
			Soja roh	Soja 0	Soja- bohnen	Ge- samt				Soja roh	Soja 0	Soja- bohnen	Ge- samt
Tier 1 ♂.													
11. I.	137	—	—	—	—	—	11. I.	102	—	—	—	—	—
12. I.	—	1	1,1	5,0	4,5	10,6	12. I.	—	1	0,5	6,5	0,5	7,5
13. I.	—	1	1,8	8,3	0,0	10,1	13. I.	—	1	0,1	8,8	0,0	8,9
14. I.	—	1	1,1	4,8	0,5	6,4	14. I.	—	1	0,8	6,5	0,0	7,3
15. I.	—	1	0,4	5,5	2,3	8,2	15. I.	—	1	1,5	4,2	0,0	5,7
17. I.	—	2	0,0	7,5	4,8	12,3	17. I.	—	2	0,3	10,0	0,5	10,8
18. I.	—	1	0,1	4,9	0,3	5,3	18. I.	†	—	—	—	—	—
20. I.	—	2	1,2	6,6	0,4	8,2	Tier 3 ♂.						
21. I.	100	—	—	—	—	—	11. I.	122	—	—	—	—	—
25. I.	—	5	0,1	9,1	0,5	9,7	12. I.	—	1	1,0	3,0	1,2	5,2
26. I.	—	1	0,0	9,3	0,0	9,3	13. I.	—	1	0,1	6,6	3,2	9,9
27. I.	—	1	0,1	2,2	2,4	4,7	14. I.	—	1	0,8	2,0	2,5	5,3
28. I.	—	1	0,2	3,7	3,8	7,7	15. I.	—	1	0,2	0,4	2,5	3,1
28. I.	67	—	—	—	—	—	17. I.	—	2	0,1	4,7	8,0	12,8
31. I.	—	3	0,0	3,6	3,8	7,4	18. I.	—	1	0,1	2,2	2,7	5,0
2. II.	—	2	0,0	1,5	5,0	6,5	20. I.	†	—	—	—	—	—
3. II.	—	1	0,0	0,2	5,0	5,2	20. I.	83	—	—	—	—	—
4. II.	—	1	0,0	—	8,3	—	Tier 4 ♂.						
5. II.	—	1	0,0	0,2	8,7	8,9	14. I.	112	—	—	—	—	—
6. II.	—	1	0,1	0,4	8,0	8,5	12. I.	—	1	0,3	4,0	1,0	5,3
7. II.	—	1	0,0	1,1	8,0	9,1	13. I.	—	1	1,5	6,9	10,0	18,4
7. II.	70	—	—	—	—	—	14. I.	—	1	1,6	2,1	3,3	7,0
8. II.	—	1	0,1	1,3	1,5	2,9							
9. II.	—	1	0,0	1,9	2,3	4,2							
10. II.	†	—	—	—	—	—							

¹⁾ Es muß bemerkt werden, daß das neue Sojamehl sich von dem gewöhnlichen Mehl schon durch seinen mandelartig angenehmen Geschmack sehr wesentlich unterscheidet, wogegen wir Menschen weder die Sojabohne noch ihr Mehl überhaupt essen könnten.

Tabelle LVIIb (Fortsetzung).

Datum	Gewicht	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Datum	Gewicht	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
			Soja roh	Soja 0	Soja-bohnen	Gesamt				Soja roh	Soja 0	Soja-bohnen	Gesamt
Tier 4 ♂.							Tier 5 ♀.						
15. I.	—	1	0,7	5,2	0,9	6,8	10. II.	—	1	0,2	5,0	0,7	5,9
17. I.	—	2	0,0	2,7	1,5	4,0	11. II.	—	1	0,0	7,8	10,0	17,8
18. I.	—	1	0,1	3,3	1,3	4,7	12. II.	—	1	0,0	6,3	4,2	10,5
20. I.	—	2	0,0	10,0	1,2	11,2	13. II.	—	1	0,0	4,8	6,7	11,5
21. I.	110	—	—	—	—	—	14. II.	—	1	0,0	5,2	5,8	11,0
25. I.	—	5	0,1	9,3	3,3	12,7	15. II.	—	1	0,2	7,0	8,2	15,4
26. I.	—	1	0,0	2,9	0,3	3,2	16. II.	—	1	0,0	1,0	5,0	6,0
27. I.	—	1	0,0	1,0	0,7	1,7	17. II.	—	1	0,3	6,5	9,0	15,8
28. I.	—	1	0,0	6,5	1,2	7,7	15. II.	125	—	—	—	—	—
28. I.	77	—	—	—	—	—	18. II.	—	1	0,2	2,1	3,3	5,6
31. I.	—	3	0,0	7,0	2,7	9,7	19. II.	—	1	0,9	7,1	4,0	11,1
2. II.	—	2	0,0	1,4	2,2	3,6	20. II.	—	1	0,0	5,2	6,1	11,3
3. II.	—	1	0,0	6,5	3,5	10,0	21. II.	—	1	0,5	3,0	7,8	11,3
4. II.	—	1	0,0	1,8	8,8	10,6	22. II.	—	1	0,0	3,5	6,0	9,5
5. II.	—	1	0,0	7,2	0,0	7,2	23. II.	—	1	0,1	0,0	1,0	1,1
6. II.	—	1	0,0	3,2	3,3	6,5	22. II.	122	1	—	—	—	—
7. II.	—	1	0,0	7,0	1,7	8,7	24. II.	—	1	0,0	0,0	4,5	4,5
7. II.	75	—	—	—	—	—	25. II.	—	1	0,0	2,5	5,5	8,0
8. II.	—	1	0,0	1,3	0,7	2,0	26. II.	—	1	0,0	9,9	2,8	12,7
9. II.	÷	1	0,0	0,6	0,7	1,3	27. II.	—	1	0,4	2,2	4,5	7,1
							28. II.	—	1	0,3	5,0	3,3	8,6
							3. III.	128	—	—	—	—	—
							3. III.	—	3	0,0	2,8	1,5	4,3
							4. III.	—	—	verschüttet			—
11. I.	117	—	—	—	—	—	5. III.	—	1	1,0	10,0	2,3	13,3
12. I.	—	1	1,2	8,8	0,9	10,9	7. III.	÷	2	0,0	9,1	0,0	9,1
13. I.	—	1	0,1	9,1	1,1	10,3							
14. I.	—	1	0,9	6,6	2,3	9,8							
15. I.	—	1	0,7	5,2	0,9	6,8							
17. I.	—	2	0,0	9,8	1,9	11,7							
18. I.	—	1	0,0	9,5	1,8	11,3							
20. I.	—	2	0,1	6,8	1,4	8,3							
21. I.	109	—	—	—	—	—	11. I.	130	—	—	—	—	—
25. I.	—	5	0,0	9,3	1,1	10,4	12. I.	—	1	0,2	—	5,0	—
26. I.	—	1	0,0	2,2	2,8	5,0	13. I.	—	1	0,1	8,6	0,0	8,7
27. I.	—	1	0,1	0,9	0,5	1,5	14. I.	—	1	1,7	4,5	0,0	6,2
28. I.	—	1	0,1	6,5	3,7	10,3	15. I.	—	1	0,0	1,5	0,2	1,7
28. I.	118	—	—	—	—	—	17. I.	—	2	0,0	9,2	0,0	9,2
31. I.	—	3	0,0	5,1	2,5	7,6	18. I.	—	1	0,5	9,9	3,0	13,4
2. II.	—	2	0,0	4,3	5,0	9,3	20. I.	—	2	0,1	7,9	0,0	8,0
3. II.	—	1	0,0	0,8	8,8	9,6	21. I.	134	—	—	—	—	—
4. II.	—	1	0,7	4,3	5,3	10,3	25. I.	—	5	0,0	6,2	2,6	8,8
5. II.	—	1	0,0	3,0	6,0	9,0	26. I.	—	1	0,1	3,5	2,1	5,7
6. II.	—	1	0,0	—	4,2	—	27. I.	—	1	0,5	5,4	1,0	6,4
7. II.	—	1	0,0	3,8	10,0	13,8	28. I.	—	1	0,2	10,0	1,2	11,4
7. II.	110	—	—	—	—	—	28. I.	59	—	—	—	—	—
8. II.	—	1	0,0	1,5	4,8	6,3	31. I.	—	3	0,0	6,2	3,5	9,7
9. II.	—	1	0,1	0,7	5,7	6,5	2. II.	—	2	0,0	4,7	2,7	7,4
							3. II.	÷	—	—	—	—	—

Die Resultate dieses Versuches lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die Tiere fressen von dem gewöhnlichen Mehl kaum oder nur in ganz geringen Quantitäten. Im Beginn des Versuches scheinen sie davon zu kosten, verschmähen es aber späterhin, indem sie es tagelang nicht berühren. Das länger lebende Tier nimmt hie und da noch minimale Quantitäten zu sich, wendet sich aber bald gänzlich von ihm ab.

2. Von der ganzen Sojabohne fressen die Tiere viel mehr als von ihrem unbehandelten Mehl. Ein einziges Tier verhält sich abweichend, es stirbt aber auch am frühesten.

3. Den Vorzug geben die Tiere dem neuen Mehl. Bei den meisten länger lebenden Tieren sehen wir eine mittlere Periode abgrenzbar, in der die ganzen Bohnen als Nahrungsmittel dominieren. Im allgemeinen gilt aber die vorher betonte Prävalenz des neuen Mehles, womit übrigens ein neues Argument geliefert ist, daß die Nagetiereigenschaften nicht bestimmend in der Nahrungswahl auftreten. Auch von dieser Allgemeinheit schließt sich ein Tier aus, indem es bald nach Beginn des Versuches die ganzen Bohnen dem neuen Mehl vorzieht, es hat aber auch die zweitkürzeste Lebensdauer.

4. Am Ende der 2. Versuchswoche ziehen die überlebenden Tiere eine Zeitlang die ganzen Bohnen dem neuen Mehl vor. Diese Periode entfällt nur bei Tier 6, welches bald hernach stirbt. Das einzig überlebende Tier nährt sich abwechselnd von Sojabohnen und neuem Mehl, wobei allerdings letzteres vorwiegt.

Weitere auffallende Regelmäßigkeiten ergeben sich aus einem Vergleich der Lebensdauer der Tiere mit der von ihnen verzehrten Gesamt-

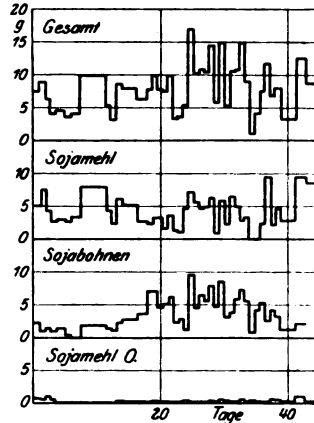


Diagramm I. Auswahlversuch: Sojamehl, Sojamehl 0, Sojabohnen.

Tabelle LVIII.

Auswahlversuch: Sojamehl, Sojamehl 0, Soja ganz.

Nr. der Tiere	Geschlecht	Lebensdauer Tage	Gesamtnahrungsverbrauch in g			
			Sojamehl	Sojamehl 0	Soja ganz	Gesamt
2	♂	7	3,5	46,0	1,5	51,0
3	♀	9	2,4	23,6	28,1	54,1
6	♂	23	3,5	136,6	40,4	175,8
4	♂	29	4,7	155,2	71,4	231,3
1	♀	30	7,9	136,3	89,5	222,8
5	♀	55	7,3	288,2	191,6	484,7

nahrung. In Tabelle LVIII ist die während des ganzen Versuchslebens, in Tabelle LIX die im Mittel täglich aufgenommene Nahrung veranschaulicht.

Tabelle LIX.

Auswahlversuch: Sojamehl, Sojamehl 0, Soja ganz.

Nr. der Tiere	Geschlecht	Lebensdauer Tage	Mittl. tägl. Verbrauch in g an:			
			Sojamehl	Sojamehl 0	Sojabohnen	Gesamt
2	♂	7	0,5	6,7	0,21	7,41
3	♀	9	0,27	2,6	3,1	5,97
6	♂	23	0,15	5,9	1,7	7,75
4	♂	29	0,16	5,4	2,8	8,36
1	♀	30	0,25	4,2	3,0	7,45
5	♀	55	0,13	5,2	3,5	8,85

Aus Tabelle LVIII ersieht man, daß die insgesamt verbrauchte Nahrung der Lebensdauer nicht proportional ist, denn manche von den Tieren, die sehr geringe Quantitäten aufnehmen, leben länger als viel-fressende.

In Tabelle LIX sehen wir besonders hohen Verbrauch von unbehandeltem Sojamehl den kürzer lebenden Tieren zukommen, größeren Konsum von ganzen Sojabohnen den länger lebenden Individuen.

Auffallend wird die Gesetzmäßigkeit zwischen Lebensdauer und Nahrungsaufnahme, wenn wir die Verbrauchsmenge des neuen Mehles gleich 100 setzen und die anderen beiden Nahrungsbestandteile auf diese Grundzahl beziehen. Dargestellt in Tabelle LX.

Tabelle LX.

Auswahlversuch: Sojabohnen, Sojamehl 0, Sojamehl.

Nr. der Tiere	Gesamtverbrauch an			Abweichung Tier 5		Summe der Abweichung	
	Sojamehl 0 g	Sojabohnen g	Sojamehl g	Sojabohnen g	Sojamehl g	absolut g	Differenz g
2	100	3	7	-64	+5	69	59
3	100	119	1	+52	-1	53	51
6	100	29	3	-38	+1	39	37
4	100	52	3	-15	+1	16	14
1	100	71	6	+4	+4	8	8
5	100	67	2	—	—	—	—

Als Standardwert gelte die Nahrungsmenge des längstlebenden Tieres. Wenn wir nun die numerischen Abweichungen von diesem Standardwert in betreff der Bohnen sowohl als auch des Mehles addieren — diese Operation kann mit den absoluten oder durch Vorzeichen bestimmten Größen vorgenommen werden — können wir feststellen,

daß die so ermittelten Werte um so größer sind, je kürzer das Tier gelebt hat. Diese Zahlen geben die Abweichungen des Instinktes der einzelnen Tiere von dem des längstlebenden an, denn, wie wir schon öfters beobachtet haben, lebt das Tier um so länger, je sicherer es von seinem Instinkt geführt wird. In diesem Versuch ist diese gesetzmäßige Abhängigkeit besonders augenfällig.

Aus Tabelle LVII ersieht man, daß die Tiere streng periodisch mehr oder weniger Nahrung aufnehmen. Diese Perioden kehren bei den einzelnen Tieren ganz regelmäßig wieder, sowohl die Minima als auch die Maxima der Nahrungsaufnahme betreffend. Die Länge der sich auf diese Weise ergebenden Perioden ist bei den verschiedenen Tieren ziemlich gleich, aus welchem Umstand der Schluß gezogen werden kann, daß die Tiere erkranken und sich wieder erholen, um so mehr, als zu den kritischen Zeitpunkten auch die Todesfälle eintreten. Diese Erscheinung soll einer weiteren experimentellen Prüfung unterzogen werden.

Weitere wichtige Resultate dieses Versuches sind die neuerlichen Beweise für die großen Veränderungen im biologischen Wert der Nahrungsmittel, die ein einfacher mechanischer Prozeß — das Mahlen — veranlassen kann und die sich bietende Möglichkeit durch systematische Auswahlversuche, die Nahrungsmittel zu erkennen, die dem Instinkt der Tiere mehr entsprechen.

Außer den erprobten biologisch guten Eigenschaften des Mehles ist es, wie wir vom praktischen Standpunkt aus zusetzen möchten, sehr gut haltbar und unterliegt nicht, wie das gewöhnliche Sojamehl, dem Ranzigwerden. Auf seine praktische Bedeutung wollen wir hier nicht eingehen, weil eine derartige Betrachtung nicht im Rahmen von Laboratoriumsexperimenten liegt. Es soll nur noch bemerkt werden, daß es bei seiner Billigkeit von hohem Nährwert und küchenmäßig äußerst einfach verwendbar ist, also allen Anforderungen entspricht, die heute an ein Nahrungsmittel gestellt werden können. Am praktischen Versuch liegt es nun, zu entscheiden, ob es sich für die Ernährung des Menschen bewähren kann, wofür allerdings die wissenschaftlichen Aussichten die bestmöglichen sind.

Die biologische Korrelation zwischen hauptsächlich eiweiß- und hauptsächlich kohlenhydrathaltiger Nahrung ¹⁾.

Von

L. Berczeller.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Wien.)

(Eingegangen am 10. Januar 1922.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

In den bisherigen Versuchen haben wir nur solche Nahrungsmittel miteinander verglichen, welche sowohl chemisch als auch botanisch sehr nahestehen und auch vom Menschen als Nahrungsmittel zu je einer Gruppe vereinigt werden. Der Vergleich dieser Nahrungsmittel war auch im Tierversuch ein eindeutiger, da mit wenig Variablen zu rechnen war. Um so auffallender war das erhaltene Resultat, daß nämlich die Tiere die einander so nahestehenden Nahrungsmittel so verschieden werten, und die Wertung doch im großen ganzen mit dem Lebenserhaltungswert, wie bei den Leguminosen, parallel geht. Sehr merkwürdig ist auch, daß die Tiere so regelmäßige Perioden in bezug auf den Wechsel der Nahrungsmittel aufweisen.

Die weiteren Versuche hatten in erster Linie den Zweck, die vorangegangenen zu ergänzen. Um die Anzahl der Variablen möglichst einzuschränken, haben wir nur einzelne Nahrungsmittel herangezogen, und zwar hauptsächlich solche, denen bei der heutigen kritischen Ernährungslage eine besondere praktische Bedeutung zukommt. Diese sind Mais und Soja. Hier muß vor allem die künstliche Bearbeitung eingreifen, um für den nicht Wohlhabenden neue und entsprechende Nahrungsmittel zu beschaffen. Diese Ersatzmittel im besten Sinne haben wir mit den höher bewerteten wie Fleisch, Milch, Eier, Weizen verglichen.

¹⁾ Die Versuche wurden teilweise von A. Billig und St. Deutsch ausgeführt.

Die Einrichtung der Versuche war der weiter oben beschriebenen ganz ähnlich. Um speziellen Fragestellungen Rechnung zu tragen, mußten die Versuchsbedingungen verschiedentlich abgeändert werden, wie noch späterhin erörtert werden wird.

a) Vergleich der Leguminosen untereinander bei Zugabe eines kohlenhydrathaltigen Nahrungsmittels (Mais).

Dieser Versuch war als Ergänzung zu dem Leguminosenauswahlversuch gedacht. Mit seiner Hilfe sollte entschieden werden einerseits, ob die seinerzeit aufgestellten Beobachtungen: die Lebensdauer ist am längsten bei Linsennahrung, nimmt bei Erbsen ab, um bei Bohnen minimal zu sein, auch bei Zusatznahrung zu den Leguminosen zu Recht bestehen, anderseits, ob die Tiere Linsen am meisten, Bohnen am wenigsten verzehren, wenn ihnen nicht alle 3 Samenarten zur Auswahl vorgelegt werden.

Zum Unterschied von den früheren Versuchen wurden immer 4 Tiere zusammengehalten (je 2 Männchen, 2 Weibchen), denen gemeinsam man das vorgewogene Futter in Mehlform vorgesetzt und die Reste zurückgewogen hat. Dadurch wird die Zahl der Wägungen verkleinert, hingegen ein systematischer Fehler eingeführt, da die Behinderung der schwächeren Tiere bei der Nahrungsaufnahme seitens der stärkeren nicht berücksichtigt wurde.

a) Mais und Bohnen. Die mit Mais und Bohnen gefütterten Tiere leben kaum länger als die mit Bohnen gefütterten¹⁾. Alle Tiere sterben gleichzeitig nach 6 Tagen. Dieses Verhalten ist um so auffälliger, als die Menge des aufgenommenen Maises eine ziemlich beträchtliche ist, die Lebensdauer aber nur wenig gegen die von hungernden Tieren verlängert. Die bisherigen Versuche lassen die Frage offen, ob die Tiere bei Bohnennahrung infolge des Hungers sterben, denn der feststellbare minimale Gewichtsschwund des Futters konnte das Dilemma nicht entscheiden. Nun können wir aber als Tatsache hinstellen, daß die Tiere Bohnen — wenn auch in den geringsten Quantitäten — verzehren und deren aktiver „Giftwirkung“ unterliegen. Zwar wird auch die Menge des aufgenommenen Maises beschränkt, ohne daß dieser Umstand aber als Todesursache gelten könnte.

b) Mais und Erbsen. Die Tiere verhalten sich den Bohnentieren insofern ähnlich, als sie im Durchschnitt bedeutend mehr Mais als Erbsen fressen. Auffallend ist die kurze Lebensdauer der Tiere, die mit Erbsen

¹⁾ Hier sei nochmals wiederholt, daß sich ältere Tiere den den Leguminosen — besonders den Bohnen — gegenüber unverhältnismäßig weniger empfindlich zeigen als jüngere, so daß ältere bei dieser Nahrung ungleich länger leben als jüngere. Deswegen haben wir auch zu den drei vergleichenden Versuchen mit Mais- und Leguminosenmehlen ganz junge und möglichst gleich alte Tiere verwendet.

Den Maiskonsum finden wir wieder überragend, auch darin eine Wiederholung der früheren Versuche, als der Leguminosenkonsum vor dem Tode sehr zurückgeht. In Tabelle LXII ist der mittlere Futterverbrauch aller 3 Versuche wiedergegeben.

Tabelle LXII.

Auswahlversuche: Mais, Linsen, Erbsen, Bohnen; Lebenswert der Leguminosen.

	Lebenswert		
	Bohnen	Erbsen	Linsen
Durchschnittliche Lebensdauer in Tagen bei einseitiger Ernährung	4,5	85,5	216,5
Durchschnittl. Lebensdauer in Tagen bei einer Ernährung von Mais + einzeln. Leguminos.	6	16,2	56
Gesamtverbrauch in g { Mais	54	226,9	1734,7
Leguminose	2,4	81,4	411,9
Zusammen in g	74,2	308,3	2049,6
Mittlerer Verbrauch per Tag { Mais	9,0	11,3	16,5
Leguminose	(0,4)	4,07	3,8
Zusammen in g	9,6	15,4	20,3
Mittlerer Lebenswert, der im Maisverbrauch Leguminosen	18,0	350,6	8227,0
Lebensdauer der einseitig ernährten Tiere, Linsen, Erbsen (Mais + Leguminosen)	0,75	5,3	3,9
K	(0,54)	0,77	6,97

Im Durchschnitt werden am wenigsten Bohnen, bedeutend mehr Linsen, am meisten Erbsen verzehrt. Der Verbrauch von Mais nimmt in der Reihenfolge der Lebensdauer der Tiere zu. Am wenigsten Mais fressen die Bohnentiere, am meisten die Linsentiere. Die erwähnte Proportionalität findet ihre Erklärung darin, daß die länger lebenden Tiere beträchtlich wachsen und daher mehr Nahrung zu sich nehmen. Dieser Versuch beweist aber, daß die Wirkung der Leguminosen bei gemischter Kost dieselbe ist wie bei einseitiger, und zwar ebensowohl in bezug auf biologischen lebenserhaltenden Wert als auch auf instinktive Auswahl. In Tabelle LXIII sind die Verhältniszahlen der verbrauchten Mengen von Linsen, Erbsen, Bohnen angegeben, berechnet

Tabelle LXIII.

Auswahlversuch: 1. Linsen, Erbsen, Bohnen, 2. Mais, Linsen, Erbsen, Bohnen. Verhältniszahlen an verbrauchtem Futter.

Futter	Ge- schlecht	Linsen : Erbsen	Linsen : Bohnen	Erbsen : Bohnen
Linsen, Erbsen, Bohnen	♂	0,95	4,62	4,85
	♀	0,94	3,04	3,24
Mais + Linsen, Mais + Erbsen, Mais + Bohnen	—	0,94	9,5	10,2

einerseits aus dem Leguminosen-Auswahlversuch, andererseits aus dem letzten Versuch, in dem die Samenmehle einzeln neben Mais verfüttert wurden.

Das Verhältnis des Linsen- und Erbsenverbrauches ist in beiden Versuchen gleich. Die Tiere bevorzugen im ganzen Durchschnitt die Erbsen, wobei der Unterschied gegen Linsen ganz geringfügig ist. Im letzten Versuch fressen die Tiere durchschnittlich viel weniger Bohnen als im Leguminosenauswahlversuch, welche Tatsache darauf zurückzuführen ist, daß die Tiere im letzten Fall (bei der kurzen Lebensdauer) nicht Zeit hatten, sich an Bohnen zu gewöhnen. Dieser Vergleich zeigt beweisend, wie geeignet die Auswahlversuche sogar für quantitative Messungen der biologischen Eigenschaften sind, und daß das Verhalten der Tiere in diesen Versuchen biologische Naturgesetze allgemeiner Bedeutung erkennen läßt. Die durchschnittliche Lebensdauer der Tiere im kombinierten Maisversuch ist bei Erbsen und Linsen viel kürzer als im einseitigen Ernährungsversuch. Wenn wir auch der Nahrungswahl Regel und Zweckmäßigkeit zusprechen können, ist sie quoad Lebenserhaltungswert doch nicht unbedingt zweckmäßig, denn wäre sie es, dürften die Tiere weder Mais noch Bohnen fressen. Die Bestätigung dafür liefern alle 3 Versuche: die mit Bohnen und Mais gefütterten Tiere leben nur unbedeutend länger, als wenn sie Bohnen allein erhalten würden, und viel kürzer, als wenn Mais ihre ausschließliche Nahrung wäre. Sowohl die mit Mais und Erbsen als auch die mit Mais und Linsen ernährten Tiere leben kürzer als bei ausschließlicher Ernährung mit den betreffenden Leguminosensamen. Diese Regelmäßigkeit läßt sich mit ziemlicher Genauigkeit auch zahlenmäßig ausdrücken, wenn wir wieder die mit der Nahrung aufgenommenen Lebenswerte berechnen. Wir erhalten dem Lebenswert proportionale Faktoren, wenn wir die von einzelnen Leguminosen verzehrte Nahrungsmenge mit der Lebensdauer der mit den Leguminosen einseitig gefütterten Tiere multiplizieren. Da die Lebensdauer der einseitig ernährten Tiere maximal um das 50fache (Linsen, Bohnen) differiert, die täglich im Mittel aufgenommene Nahrung um das 10fache, unterscheiden sich auch die erhaltenen Werte deutlich voneinander. Die so berechneten Werte durch die Lebensdauer der mit Mais und den entsprechenden Samen gefütterten Tiere dividiert, ergibt nämlich konstante Werte, insbesondere sind sie für den Linsen- und Erbsenversuch praktisch gleich. Der Mais-Bohnenversuch erfährt eine Einschränkung seiner Genauigkeit auch dadurch, daß während seiner 6tägigen Dauer der Futterverbrauch nur für 3 Tage bekannt ist, so daß der Mittelwert unsicher ist. Alle bisherigen Versuche weisen daraufhin, daß in den ersten 3 Versuchstagen der Bohnenverbrauch größer sein müßte als in den folgenden 3 Tagen, daß man sogar mit einer Verdoppelung rechnen muß. Schon eine geringe Veränderung

würde es verursachen, daß die höchste Konstante bei Linsen erreicht wird, wenn der mittlere Bohnenverbrauch 0,58 g pro Tag wäre, dann erreichen wir schon die Konstante des Erbsenversuches. Diese geringen Abweichungen sind aber unbedingt auf den erwähnten Versuchsfehler zurückzuführen. Die Konstante im Erbsen- und Linsenversuch ist viel genauer bestimmbar, da die Tiere viel länger leben und somit die im Mittel verbrauchte Nahrungsmenge wie auch die Lebensdauer klarer festzustellen sind.

b) Vergleich von Maismehl und Weizenfeinmehl bei
Zugabe einer Eiweißnahrung.

In den folgenden Versuchen haben wir das schon erwähnte Sojamehl mit anderen fett- und eiweißhaltigen Nahrungsmitteln verglichen.

Tabelle LXIV. Auswahlversuch: Maismehl, Weizenfeinmehl, Sojamehl 0.

Datum	Mittleres Gewicht g	Tage	Mittlere Mengen der von 6 Tieren verzehrt Nahrungsmittel in g				Bemerkungen
			Mais- mehl	Weizen- mehl	Soja- mehl 0	Gesamt	
7. I.	125	—	—	—	—	—	
8. I.	—	1	8,3	1,4	2,96	12,4	
9. I.	—	1	9	0,7	4,4	14,4	
10. I.	—	1	9,1	1,75	4,6	14,9	
11. I.	—	1	9,5	1,8	3,3	14,9	
12. I.	—	1	9,4	2,3	1,5	13,6	
13. I.	—	1	9,36	1,75	1,5	12,2	
14. I.	—	1	9,2	1,1	1,5	11,8	
17. I.	—	3	10,2	1,2	1	12,5	
21. I.	—	4	11,4	1,3	0,8	13,5	
24. I.	—	—	—	—	—	—	
25. I.	—	4	9,3	1,8	2,96	14,1	
26. I.	—	1	9,36	2,1	0,85	12,3	
27. I.	—	1	8,05	0,9	1,1	10	
28. I.	130	1	9,8	1,55	1,66	13	
31. I.	—	3	10,9	1,26	0,8	13	
3. II.	—	3	8	1	1,1	10,1	
7. II.	133	4	9,5	0,66	4,9	15	Nr. 6 dem Versuch entnommen.
14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5	
15. II.	143	—	—	—	—	—	
21. II.	—	7	9,7	0,5	1,3	11,5	
28. II.	—	7	8,7	1,3	2,3	12,3	
3. III.	—	—	—	—	—	—	
12. III.	145	—	—	—	—	—	
15. III.	—	15	10,2	2,1	0,8	15,3	
19. III.	149	—	—	—	—	—	
29. III.	—	14	10,08	3,9	2,8	16,8	
30. III.	131,7	—	—	—	—	—	Nr. 3 dem Versuch entnommen. 9. IV. Nr. 1 †. 18. IV. Nr. 4 †. Nr. 2 † } 19. IV. Nr. 5 † }
6. IV.	126	7	8,85	4,3	0,55	13,7	
13. IV.	99	—	—	—	—	—	
14. IV.	—	8	7,3	3,7	1,6	12,6	
15. IV.	—	5	5	2,5	1,2	8,7	
18. IV.	—	—	—	—	—	—	

Dieses wurde in erster Linie aus methodischen Rücksichten gewählt, weil wir dadurch eine konzentrierte fett- und eiweißhaltige vegetabilische Nahrung in Mehlform mit animalischen, ähnlich zusammengesetzten Lebensmitteln in Parallele setzen konnten. Die verschiedenen Versuche wurden nicht unter ganz gleichen Bedingungen angestellt, insofern als nicht immer gleich schwere Tiere verwendet wurden — in dem Versuch mit Milch hatten wir viel jüngere Tiere. In einer anderen Versuchsreihe wurde nicht die Gesamtlebensdauer vor allem berücksichtigt, sondern die verschiedenen Zubereitungsmethoden, um die Resultate beweisender zu gestalten. Dadurch werden aber die Vergleichsmöglichkeiten eingeschränkt.

In Tabelle LXIV sind die Mittelwerte des Verbrauches von Maismehl, Weizen, Feinmehl und Sojamehl eingetragen. Die Tabelle zeigt den

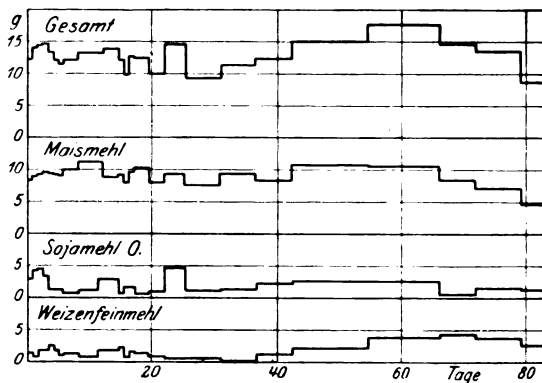


Diagramm I. Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl 0, Weizenfeinmehl.

ganz charakteristischen Ablauf der Nahrungsauswahl; es fressen nämlich die Tiere am meisten Mais, viel weniger Sojamehl und — anfangs ganz regelmäßig — noch weniger Weizenmehl. Das Verhältnis Maismehl zu Weizenmehl entspricht vollkommen dem in jenem Versuch festgestellten Verbrauchsverhältnis, in dem außer diesen beiden Roggen verwendet wurde. Am Ende des Versuches sehen wir das Weizenfeinmehl im Konsum steigen und dieser Veränderung entsprechend sowohl Mais als auch Soja sinken. Der in dieser Zeit eintretende Gewichtsverlust weist auch daraufhin, daß sich nun Eiweißmangel bemerkbar macht.

In Tabelle LXV sind die Einzelwerte für die von den Tieren verbrauchte Nahrungsmenge angeführt. Ihr Verlauf ist sogar in quantitativer Hinsicht ganz charakteristisch, so daß die Einzelwerte der Mittelwertskurve nahezu mathematisch folgen. Von Einzelheiten möge nur der zu Versuchsbeginn auftretende hohe Sojamehlverbrauch erwähnt werden, der alle Tiere betrifft, aber nur kurze Zeit dauert. In diesem Fall wird die Lebensdauer nicht durch die Abnahme im Verbrauch

Tabelle LXV.

Auswahlversuch: Maismehl, Weizenfeinmehl, Sojamehl O.

Datum	Ge- wicht	Tage	Menge der von den ein- zelnen Tieren pro Tag ver- zehrtten Nahrungsmittel in g				Datum	Ge- wicht	Tage	Menge der von den ein- zelnen Tieren pro Tag ver- zehrtten Nahrungsmittel in g			
			Mais- mehl	Weizen- mehl	Soja- mehl O	Ge- samt				Mais- mehl	Weizen- mehl	Soja- mehl O	Ge- samt
Tier 1 ♀.							Tier 2 ♂.						
7. I.	125	—	—	—	—	—	3. II.	—	3	7,7	0,4	0,8	8,9
8. I.	—	1	—	1,0	—	—	7. II.	132	4	11,5	0,3	4,2	16,0
9. I.	—	1	8,2	0,0	7,8	16,0	14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5
10. I.	—	1	9,2	1,8	6,3	17,3	15. II.	137	—	—	—	—	—
11. I.	—	1	9,6	0,4	4,6	15,6	21. II.	—	7	10,0	0,4	0,8	11,2
12. I.	—	1	10	1,4	3,0	14,4	28. II.	—	7	9,5	0,7	1,9	12,1
13. I.	—	1	10	0,5	1,9	12,4	3. III.	135	—	—	—	—	—
14. I.	—	1	10	0,0	2,0	12,0	12. III.	144	—	—	—	—	—
17. I.	—	3	12,1	0,7	1,2	14,0	15. III.	—	15	10,7	2,4	2,2	15,3
21. I.	139	4	14,5	0,0	0,5	15,0	19. III.	141	—	—	—	—	—
25. I.	—	4	9,8	1,5	2,1	13,4	29. III.	—	14	9,3	3,6	3,4	16,3
26. I.	—	1	9,5	1,8	0,2	11,5	30. III.	108	—	—	—	—	—
27. I.	—	1	8,1	0,5	0,0	8,6	6. IV.	108	8	9,0	4,3	1,1	14,4
28. I.	132	1	9,4	2,2	0,0	11,6	14. IV.	—	8	7,5	4,8	1,1	13,4
31. I.	—	3	9,9	3,2	0,2	13,3	19. IV.	82	5	5,0	2,0	0,2	7,2
3. II.	—	3	10,1	1,7	0,0	11,8	Tier 3 ♀.						
7. II.	140	4	8,5	1,6	2,9	13,0	7. I.	125	—	—	—	—	—
14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5	8. I.	—	1	8,3	0,5	2,5	11,3
15. II.	147	1	—	—	—	—	9. I.	—	1	9,4	1,8	2,8	14
21. II.	—	6	10,0	0,3	0,6	10,9	10. I.	—	1	9,5	0,9	3,1	13,5
28. II.	—	7	8,7	1,8	3,6	14,1	11. I.	—	1	9,9	1	2,5	13,4
3. III.	—	3	—	—	—	—	12. I.	—	1	9,7	1,3	0,9	11,9
12. III.	144	9	—	—	—	—	13. I.	—	1	9,8	1,8	1,1	12,7
15. III.	—	15	9,5	3,4	3,3	16,2	14. I.	—	1	10	0	1,1	11,1
19. III.	143	4	—	—	—	—	17. I.	—	3	9,4	0,6	2	12
29. III.	—	10	10,2	3,4	0,6	17,2	21. I.	135	4	10	0	1,1	11,1
30. III.	133	—	—	—	—	—	25. I.	—	4	9,7	0,2	0,9	10,8
6. IV.	117	7	9,0	3,5	0,4	12,9	26. I.	—	1	9,5	0,2	0,5	10,2
9. IV.	92	3	6,0	3,7	1,0	10,7	27. I.	—	1	4,7	0	0	4,7
Tier 2 ♂.							28. I.	122	1	9,9	0,2	0	10,1
7. I.	107	—	—	—	—	—	31. I.	—	3	9,2	0,1	0,5	9,8
8. I.	—	1	7,7	2,5	3,2	13,4	3. II.	—	3	8,5	0,2	0,6	9,3
9. I.	—	1	9,1	1,4	3,0	13,5	7. II.	120	4	12	0,3	4,4	16,7
10. I.	—	1	9,5	4,0	1,8	15,3	14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5
11. I.	—	1	9,5	3,5	2,5	15,5	15. II.	124	—	—	—	—	—
12. I.	—	1	8,3	4,4	1,4	14,1	21. II.	—	7	10,4	0	1,3	11,7
13. I.	—	1	9,4	3,8	1,6	14,8	28. II.	—	7	9,3	0,7	1,5	11,5
14. I.	—	1	8,4	1,9	1,3	11,6	3. III.	128	—	—	—	—	—
17. I.	—	3	9,5	0,8	2,0	12,3	12. III.	127	—	—	—	—	—
21. I.	129	4	12,7	0,8	1,5	15,0	15. III.	131	15	8	0,7	2,4	11,1
25. I.	—	4	10,0	0,3	2,6	12,9	19. III.	—	—	—	—	—	—
26. I.	—	1	9,9	0,2	0,0	10,1	29. III.	—	14	9	3,2	—	—
27. I.	—	1	8,5	0,0	0,0	8,5	30. III.	—	—	—	—	—	—
28. I.	127	1	9,7	0,5	0,0	10,2	6. IV.	—	—	—	—	—	—
31. I.	—	3	10,6	0,2	0,9	11,7	14. IV.	—	—	—	—	—	—
dem Versuch entnommen.													

dem Versuch entnommen.

Tabelle LXV (Fortsetzung).

Datum	Gewicht	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Datum	Gewicht	Tage	Menge der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
			Mais-mehl	Weizen-mehl	Soja-mehl O	Gesamt				Mais-mehl	Weizen-mehl	Soja-mehl O	Gesamt
Tier 4 ♂.							Tier 5 ♀						
7. I.	142	—	—	—	—	—	21. I.	141	4	9,9	0,2	3,2	13,3
8. I.	—	1	9,8	1,8	3	14,6	25. I.	—	4	6,4	3,4	2,8	12,6
9. I.	—	1	10	1	4,4	15,4	26. I.	—	1	7,6	4,2	0,0	11,8
10. I.	—	1	10	3,3	5,3	18,6	27. I.	—	1	7,0	3,5	0,6	11,1
11. I.	—	1	10	4,2	4,3	18,5	28. I.	142	1	9,9	3,8	0,8	14,5
12. I.	—	1	10	4,1	1,4	15,5	31. I.	—	3	11,9	1,3	0,9	14,1
13. I.	—	1	10	4,1	1	15,1	3. II.	—	3	6,7	1,5	0,0	8,2
14. I.	—	1	10	4,2	2	16,2	7. II.	142	4	6,5	0,6	3,6	10,7
17. I.	—	3	12,7	0,8	0,4	13,9	14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5
21. I.	172	4	13	0,8	1,5	15,3	15. II.	150	—	—	—	—	—
22. I.	dem Versuch entnommen, durch neues Tier ersetzt.						21. II.	—	7	7,1	1,4	0,9	9,4
24. I.	132	—	—	—	—	—	28. II.	—	7	6,0	1,6	2,1	9,7
25. I.	—	1	9,9	3,2	9,7	22,8	3. III.	141	—	—	—	—	—
26. I.	—	1	9,7	5,8	3,4	18,9	12. III.	153	—	—	—	—	—
27. I.	—	1	10	7,3	3,9	21,2	15. III.	—	15	12,3	2,9	2,5	17,7
28. I.	125	1	9,8	2,3	6,9	19,0	19. III.	165	—	—	—	—	—
31. I.	—	3	10,9	2,3	2,2	15,4	29. III.	—	14	11,3	5,3	1,4	18,0
3. II.	—	3	8,9	2,3	2,8	14,0	30. III.	158	—	—	—	—	—
7. II.	132	4	10,2	1,2	9,2	20,6	6. IV.	164	8	8,4	3,5	1,4	13,3
14. II.	—	7	7,7	0,6	1,2	9,5	14. IV.	—	8	10,0	4,4	1,1	15,5
15. II.	157	—	—	—	—	—	19. IV.	127	5	5,0	3,0	2,2	10,2
21. II.	—	7	11,1	0,4	2,8	14,3	Tier 6 ♂.						
28. II.	—	7	10,2	1,6	2,7	14,5	7. I.	124	—	—	—	—	—
3. III.	155	—	—	—	—	—	8. I.	—	1	7,3	0,3	2,5	10,1
12. III.	167	—	—	—	—	—	9. I.	—	1	9,2	0,0	4,8	15,0
15. III.	—	15	10,7	2,7	2,9	16,3	10. I.	—	1	9,7	0,2	3,0	12,9
19. III.	165	—	—	—	—	—	11. I.	—	1	9,9	0,5	1,6	12,0
29. III.	—	14	10,6	4	3	17,6	12. I.	—	1	9,7	—	1,5	—
30. III.	128	—	—	—	—	—	13. I.	—	1	9,2	0,3	1,9	11,4
6. IV.	116	—	—	—	—	—	14. I.	—	1	9,6	0,3	1,5	11,4
8. IV.	95	10	7	2	3	12	17. I.	—	3	—	—	—	—
Tier 5 ♀.							21. I.	136	4	9,3	0,2	0,4	9,9
7. I.	130	—	—	—	—	—	22. I.	Versuch abgebrochen.					
8. I.	—	1	—	2,5	3,6	—	24. I.	149	—	—	—	—	—
9. I.	—	1	8,6	0,0	3,8	12,4	25. I.	—	1	10,0	2,1	0,0	12,1
10. I.	—	1	5,1	0,3	6,2	11,6	26. I.	—	1	10,0	0,5	1,0	11,5
11. I.	—	1	8,5	1,6	4,5	14,6	27. I.	—	1	10,0	0,0	2,2	12,2
12. I.	—	1	8,7	0,5	3,0	12,2	28. I.	143	1	10,0	0,3	2,3	12,6
13. I.	—	1	7,8	0,0	1,8	9,6	31. I.	—	3	11,6	0,5	0,7	12,8
14. I.	—	1	7,2	0,2	1,4	8,8	3. II.	—	3	6,2	—	2,2	—
17. I.	—	3	10,0	0,7	0,9	12,1	7. II.	—	4	11,6	0,4	5,3	17,3
							dem Versuch entnommen.						

des Sojamehls bestimmt, wie man aus dem Vergleich der mittleren Nahrungsaufnahme mit der Lebensdauer erschen kann (Tabelle LXVI).

Tabelle LXVI.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl, Weizenfeinmehl; Lebensdauer, Gesamtverbrauch, täglicher Mittelwert.

Nr. des Tieres	Geschlecht	Lebensdauer Tage	Gesamtverbrauch an			Gesamt	Täglicher Mittelwert			Gesamt
			Mais g	Soja g	Weizenmehl g		Mais g	Soja g	Weizenmehl g	
1	♀	91	820,8	180,9	181,5	1182,2	9,1	2,0	2,0	13,1
4	♂	74	720,6	207,1	171,9	1130,6	9,7	3,2	2,3	15,2
2	♂	101	948,3	185,6	212,1	1347,0	9,4	1,8	2,1	13,4
5	♀	101	909,2	186,0	266,2	1355,0	9,0	1,8	2,6	13,4

Demnach sterben diejenigen Tiere früher, die mehr Sojamehl verzehren, ohne daß dieses aber als Todesursache gelten könnte, die man vielmehr in der besprochenen Abnahme des Sojaverbrauches bei fortschreitender Versuchsdauer zu suchen hat. Eine Ausnahme bildet das zuerst verwendete Tier, das das größte Anfangsgewicht und den höchsten Sojakonsum aufweist (siehe Tabelle LXVII). Die beiden länger lebenden Tiere 2 und 5 nehmen in derselben Zeit ebensoviel zu sich wie Tier 1. Diese Differenzen werden noch geringer, wenn wir den Sojaverbrauch auf den Gesamtverbrauch beziehen.

Tabelle LXVII.
Mittlerer Sojaverbrauch.

Nr. der gest. Tiere	Versuchsdauer Tagen	Gestorb. Tiere	Mittlerer Sojaverbrauch per Tag		
			1	2	5
4	74	3,2	2,2	2,2	2,0
1	91	2,0	—	2,0	1,9
Bezogen auf die Gesamtnahrung.					
	74	2,1	1,7	1,7	1,5
	91	1,6	—	1,6	1,5

Die wichtigste Beobachtung bei diesem Versuch ist, daß die Tiere ausnahmslos mindestens die Hälfte ihres Eiweißbedarfes durch Sojamehl decken.

In den im folgenden beschriebenen Versuchsreihen haben wir das Sojamehl mit animalischen Produkten (Milchpulver, Ei und Fleisch) verglichen.

c) Vergleich von Pflanzeneiweiß (Soja) mit animalischem (Milch, Fleisch, Eier).

α) Milch.

Wie schon erwähnt, wurden in diesem Versuch 6 besonders kleine Tiere eingestellt. Das verwendete Milchpulver ist ein erstklassiges englisches Präparat, das als Kindernahrung benützt wird.

Tabelle LXVIII.
Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl 0, Milchpulver.

Datum	Gewicht	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				Datum	Gewicht	Tage	Mengen der von den einzelnen Tieren pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g			
			Mais	Soja	Am-brosia	Gesamt				Mais	Soja	Am-brosia	Gesamt
Tier 1 ♀.							Tier 4 ♂.						
24. II.	68	—	—	—	—	—	24. II.	80	—	—	—	—	—
25. II.	—	1	4,6	2,3	0,5	7,4	25. II.	—	1	3,5	0,2	4,2	7,9
28. II.	—	3	10,0	7,7	9,3	27,0	28. II.	—	3	10,0	9,8	5,8	25,6
1. III.	—	1	7,3	1,0	3,0	11,3	1. III.	—	1	4,5	1,0	5,0	10,5
2. III.	—	1	6,5	0,0	2,0	8,5	2. III.	—	1	6,0	0,5	2,0	8,5
9. III.	—	7	6,35	0,7	0,54	7,59	9. III.	—	7	8,0	1,07	1,4	10,5
16. III.	—	7	11,0	1,3	1,4	13,7	16. III.	—	7	10,0	1,6	4,0	15,6
24. III.	—	8	10,8	0,6	2,25	12,85	24. III.	—	8	12,0	13,0	1,1	14,35
1. IV.	—	8	9,5	1,1	2,6	13,2	1. IV.	—	8	11,0	1,7	2,3	15,0
6. IV.	96	—	—	—	—	—	6. IV.	116	—	—	—	—	—
8. IV.	—	7	9,0	0,9	3,0	12,9	8. IV.	—	7	7,0	1,4	0,6	9,0
13. IV.	94	—	—	—	—	—	13. IV.	114	—	—	—	—	—
20. IV.	82	—	—	—	—	—	20. IV.	92	—	—	—	—	—
22. IV.	—	14	7,1	0,3	1,5	8,9	22. IV.	—	14	9,0	1,7	2,1	12,8
26. IV.	†	4	10,1	1,25	5,0	16,25	25. IV.	—	3	8,3	0,0	6,7	15,0
Tier 2 ♀.							Tier 5 ♀.						
24. II.	72	—	—	—	—	—	24. II.	80	—	—	—	—	—
25. II.	—	1	0,3	0,6	2,2	3,1	25. II.	—	1	5,7	0,4	3,3	9,4
28. II.	—	3	9,6	9,4	7,8	26,8	28. II.	—	3	10,0	9,6	6,7	26,3
1. III.	—	1	7,0	0,0	0,5	7,5	1. III.	—	1	7,5	0,0	4,5	12,0
2. III.	—	1	7,3	0,0	0,4	7,7	2. III.	—	1	6,8	0,0	1,0	7,8
9. III.	—	7	8,8	0,64	3,4	12,84	9. III.	—	7	8,1	2,0	1,4	11,5
16. III.	—	7	8,4	0,2	1,7	10,3	16. III.	—	7	9,0	1,8	2,0	12,8
24. III.	—	8	15,0	1,0	2,0	18,0	24. III.	—	8	9,4	1,5	1,6	12,5
1. IV.	—	8	11,0	1,0	2,4	14,4	1. IV.	—	8	9,0	0,8	3,0	12,8
6. IV.	116	—	—	—	—	—	6. IV.	96	—	—	—	—	—
8. IV.	—	7	15,0	2,0	1,4	18,4	8. IV.	—	7	5,0	3,0	1,4	9,4
13. IV.	114	—	—	—	—	—	13. IV.	89	—	—	—	—	—
20. IV.	92	—	—	—	—	—	20. IV.	67	—	—	—	—	—
22. IV.	—	14	11,0	2,0	2,5	15,5	22. IV.	†	14	10,0	—	1,0	—
25. IV.	†	3	10,0	1,25	3,3	14,55							
Tier 3 ♀.							Tier 6 ♂.						
24. II.	65	—	—	—	—	—	24. II.	71	—	—	—	—	—
25. II.	—	1	5,2	2,0	1,8	9,0	25. II.	—	1	6,1	0,3	3,0	9,4
28. II.	—	3	10,0	6,5	7,0	23,5	28. II.	—	3	10,0	9,7	7,0	26,7
1. III.	—	1	8,0	0,7	2,7	11,4	1. III.	—	1	8,0	0,0	2,0	10,0
2. III.	—	1	8,0	0,3	2,8	11,1	2. III.	—	1	8,0	0,0	6,0	14,0
9. III.	—	7	8,3	1,0	3,0	12,3	9. III.	—	7	10,7	1,57	2,4	14,67
16. III.	—	7	9,9	0,6	2,6	13,1	16. III.	—	7	8,7	0,3	1,4	10,4
24. III.	—	8	10,6	1,6	2,1	14,3	24. III.	—	8	12,5	1,25	2,5	16,25
1. IV.	—	8	9,4	1,4	2,3	13,1	1. IV.	—	8	11,7	1,5	2,5	15,7
6. IV.	98	—	—	—	—	—	6. IV.	117	—	—	—	—	—
8. IV.	—	7	7,0	2,3	2,0	11,3	8. IV.	—	7	6,7	1,0	3,0	10,7
13. IV.	94	—	—	—	—	—	13. IV.	121	—	—	—	—	—
20. IV.	82	—	—	—	—	—	20. IV.	95	—	—	—	—	—
22. IV.	—	14	9,5	1,5	0,3	11,3	22. IV.	—	14	10,0	0,3	1,7	12,0
27. IV.	†	5	13,6	1,2	8,3	23,1	25. IV.	†	3	10,0	0,0	3,3	13,3

Aus der Tabelle LXVIII ersehen wir ein in vielen Punkten dem vorigen Versuche ähnliches Verhalten. Die Tiere nehmen regelmäßig mehr Mais als von den anderen fett- und eiweißhaltigen Nahrungsmitteln zu sich. Der Verbrauch von Milchpulver ist im allgemeinen größer als der von Sojamehl, doch nähern sich die beiden Werte einander oft. Erst zu Ende des Versuches macht sich eine starke Vorliebe für das Milchpulver bemerkbar. Das Verhalten aller Tiere ist von auffallender Gleichmäßigkeit, auch bezüglich der Lebensdauer — die 3 Männchen sterben an einem Tag — wie dies aus Tabelle LXVIII ersichtlich ist.

Zweifellos ist das Milchpulver im Vergleich zum Sojamehl biologisch wertvoller schon deshalb, weil dieses nicht den das Wachstum fördernden fettlöslichen Nährfaktor in gleichem Maße besitzt wie die Milch. Diese Wirkung der Milch ist aber heute leicht und für den Menschen viel billiger zu ersetzen. In diesem Versuch sehen wir die Tiere neben dem biologisch sehr wertvollen Milchpulver das Sojamehl in immerhin nennenswerten Quantitäten als Nahrungsmittel heranziehen, und zwar in größerem Maße als z. B. neben Linsen die Bohnen.

Die pro Gramm Körpergewicht verbrauchte Milchpulvermenge ist dem Körpergewicht umgekehrt, und direkt proportional der Lebensdauer:

Nr. des Tieres . . .	3	1	6	2	4	5
Gewicht	65	68	71	72	80	80
Lebensdauer	62	61	60	60	60	57
Pro Gramm verbrauchte						
Milchpulvermenge	4,0	3,7	3,5	3,3	3,0	2,5

Tabelle LXX.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl, Milchpulver.

Nr. des Tieres	Geschlecht	Gewicht g	Lebensdauer Tage	Gesamtnahrungsverbrauch in g				Mittlerer Nahrungsverbrauch in g			
				Maismehl	Sojamehl	Milchpulver	Gesamt	Maismehl	Sojamehl	Milchpulver	Gesamt
1	♂	68	61	529	69,3	147,5	745,6	8,7	1,1	2,4	13,2
2	♂	72	60	660,8	96,4	152,1	909,3	11,0	1,6	2,5	15,1
3	♂	65	62	588,6	100,8	172,4	861,8	9,6	1,7	2,6	13,9
4	♂	80	60	553,9	107,6	147,3	808,8	9,2	1,8	2,4	13,4
5	♂	80	57	491,9	95,2	113,3	700,4	8,7	1,7	2,0	12,4
6	♂	71	60	598,4	75,9	153,3	827,6	10,0	1,2	2,5	12,7

Tabelle LXXI. Auswahlversuch: Maismehl, Soja, Fleisch.

Nahrung	Verbrauch von wasserhaltiger Nahrung in g										Verbrauch von Trockensubstanz in g									
	Datum (Periode)	Tage	Nr. des Tieres	Mais		Soja		Fleisch		Gesamt	Soja		Fleisch		Soja + Fleisch		Gesamt			
				♂	♀	♂	♀	♂	♀		♂	♀	♂	♀	♂	♀				
Maismehl, Sojamehl, rohes Fleisch	14.—22. VI.	8	1	12,6	12,1	1,3	17,5	14,9	31,6	1,3	1,8	4,4	3,7	5,7	5,5	18,3	17,6			
			2						28,8											
			3	10,9		0,9	16,0		27,8	0,9	0,6	4,0	3,8	4,9	4,4	15,8	17,2			
			4		12,8			15,1	28,5											
			5	10,6		0,9	11,8		23,3	0,9	0,97	2,9		3,8		14,4	18,5			
			6	13,8			15,0		29,8				3,8		4,7		16,7			
Maismehl, Soja I, rohes Fleisch	22. VI.—1. VII.		Mittelwerte:	11,3	12,9	1,0	15,1	15,0	27,6	1,0	1,1	3,8	3,7	4,8	4,8	16,1	16,7			
				12,1		1,05	15,05		28,3		1,05	3,75		4,8		16,4				
		9	1	10,0		12,4	15,6	16,4	38,0	4,8		3,9	4,1	8,7	8,1	18,7	16,5			
			2		8,4				36,1		4,4									
			3	11,1		4,2	11,8		27,1	1,63		2,9	2,9	4,5	5,6	16,6				
			4		10,9		7,3	11,6	28,8	2,1	2,84	3,4		5,5	5,7	16,2	17,0			
Maismehl, Soja I, rohes extrah. Fleisch	1.—9. VII.		Mittelwerte:	10,6	9,6	7,3	9,1	13,7	31,6	2,84	3,55	3,4	3,7	6,2	7,2	16,8	17,8			
				9,8		8,2	14,3		32,6		3,14	3,5		6,7		17,3				
		8	1	9,9		13,5	11,4	10,1	34,6	5,26		2,51	2,2	7,8	7,9	17,7	17,0			
			2		9,1				34,0		5,73									
			3	14,6		9,1	7,5	11,3	31,2	3,54		1,65	2,5	5,2	5,2	19,8	17,0			
			4		9,7		12,5		33,5	5,2	4,87	2,06		7,3	7,3	19,2	17,7			
Maismehl, Soja I, rohes gekochtes Fleisch	9.—18. VII.		Mittelwerte:	12,9	9,6	11,9	13,2	9,4	33,5	4,60	5,14	1,96	2,53	6,5	7,7	18,7	17,3			
				10,9		12,6	10,5		33,9		4,9	2,25		7,2		18,0				
		9	1	10,06		13,1	14,7		37,86	5,1		6,3		11,4		21,5				
			3	7,1		10,1	12,8		30,0	3,9		5,4		9,3		16,4				
			4		6,9		14,9	15,4	37,2	5,8		6,62		12,4		19,3				
			5	9,1		13,6	15,05	14,2	37,75	5,28		6,47		11,7		20,8	22,2			
			Mittelwerte:	8,75	8,6	12,3	14,9	13,0	31,05	4,8	5,8	5,6	6,36	10,4	12,2	19,1	20,8			
				8,68		13,6	13,5		36,2			6,1		11,9		22,2				

18.—22. VII. Maismehl, Soja I, gekochtes extra- hirtes Fleisch	1	14,6	22,6	12,7	39,8	8,8	5,1	13,9	28,5
	3	52,9	21,9	18,0	45,8	8,5	7,2	15,7	21,6
	4		8,6					3,4	
	5	10,0	20,4	9,05	39,45	7,9	3,6	11,5	21,5
	6		7,4	20,6		8,0	3,0	11,0	20,4
	Mittelwerte:	10,2	8,0	21,6	21,1	13,25	8,1	44,05	37,2
22.—25. VII. Maismehl, Soja II, rohes Fleisch		9,1	21,35	10,7	41,15	8,3	4,2	12,5	21,6
	1	14,6	16,0	11,0	41,6	8,0	4,7	12,7	27,3
	3	5,9	16,6	10,8	33,3	8,3	4,6	12,9	18,8
	4		8,6	16,6	12,6	8,3	5,4	13,7	22,3
	5	10,0	16,5	13,3	38,8	8,2	5,7	13,9	23,9
	6		7,4	16,2	11,2	8,1	4,8	12,9	20,3
25.—30. VII. Maismehl, Soja II, gekochtes Fleisch		10,2	8,0	16,4	11,7	11,9	8,2	5,1	13,2
		9,1	16,4	11,8	37,3	8,2	5,05	13,25	23,4
	1	10,0	20,0	19,7	47,9	10,0	4,9	14,9	24,9
	3	9,4	19,6	17,16	46,2	9,8	4,3	14,1	23,5
	4		9,9	17,2	15,7	8,6	3,9	12,5	22,4
	5	9,7	14,5	13,4	37,6	7,2	3,6	10,8	20,5
Mittelwerte:	6	6,6	22,6	23,16	52,4	11,3	5,8	17,1	23,7
		9,7	8,25	18,0	19,9	16,75	19,43	44,45	47,53
Mittelwerte:		9,0	18,95	18,09	45,9	9,4	4,5	13,9	22,95
									23,0

In Tabelle LXX ist die Gesamtmenge der einzelnen verzehrten Nahrungsmittel sowie der mittlere Tagesverbrauch eingezeichnet. Wir sehen aus diesen Daten, daß, obwohl die Differenzen in der Lebensdauer der Tiere und im Verbrauch des Milchpulvers sehr gering sind, doch im Falle des maximalen Milchverbrauches die Lebensdauer auch den höchsten Wert erreicht. Der Sojamehlkonsum zeigt im allgemeinen nach der Größe ähnliche, aber mit der Lebensdauer nicht regelmäßig zusammenliegende Veränderungen, jedenfalls dient er mit zur Befriedigung eines großen Teils des Eiweißbedürfnisses, denn im Minimum beträgt der Eiweißzuschuß von seiten des Sojamehls 60% des Milcheiweißes, im Maximum übertrifft er ihn um 10%. Letzterer Fall erweist sich allerdings als nicht vorteilhaft, solange nicht grüne Gemüse zugeführt werden, wie wir dies später noch sehen werden. Das Sojamehl bildet neben Milchpulver für das Tier eine sehr wertvolle Nahrung. Nachdem aber das Auswahlvermögen der Tiere verschiedenartig funktioniert, vor allem nicht absolut, sondern relativ zweckmäßig arbeitet, verkürzt sich ihre Lebensdauer. Die schwereren und mithin älteren Tiere halten sich nicht so sehr an Milchpulver, wobei der geringere

Zuspruch zum Milchpulver keinesfalls infolge Bevorzugung der Soja eintritt, je jünger die Tiere sind, desto mehr bevorzugen sie Trockenmilch. Das längstlebende Individuum frißt am meisten Milch und fast ebensoviel Soja und beweist auf diese Art neuerlich die oben ausgesprochene Behauptung¹⁾.

ß) Fleisch.

In diesem Versuch haben 6 weiße Ratten, 3 Männchen und 3 Weibchen, auf 7 Zeitabschnitte, verteilt Soja und Fleisch in verschiedenem Zustand, Maismehl immer in derselben Form erhalten. Die Dauer einer Periode betrug beiläufig eine Woche, der Durchschnitts- sowohl wie der Einzelverbrauch ist aus folgender Tabelle ersichtlich. Zur Methodik ist noch zu bemerken, daß die Verdunstungsverluste der feuchten Nahrungsmittel durch Kontrollen festgestellt wurden und das Zurückwägen des so leicht verderblichen Materials entweder täglich geschah oder mit Hilfe der schon einmal erwähnten Art von Trockensubstanzbestimmungen.

In der ersten Periode fressen die Tiere der Menge nach am meisten rohes Fleisch, weniger Maismehl und kaum 10% von Sojamehl. (Das Sojamehl wurde auf dieselbe Art vorbehandelt wie für die vorigen Versuche.)

Auch in bezug auf die Trockensubstanz wurde am meisten Maismehl verzehrt. Demnach brauchen die Tiere, wenn sie auch Fleisch vorgesetzt bekommen, weniger Sojamehl als in allen bisherigen Versuchen. Es wurde nun geprüft, ob der gequollene Zustand der Eiweißkörper dieses Verhalten verursacht und zu diesem Zwecke die Soja in einem dem vorigen ähnlichen, aber gequollenen Zustand gereicht (Soja I). Die Annahme erwies sich insofern als richtig, als sehr viel von dieser Soja I, weniger Fleisch als in der ersten Periode und auch weniger Maismehl verzehrt wurden. Der Fleischverbrauch war aber immer noch größer als der von Soja, da besonders einige Tiere viel mehr Fleisch fressen. So beträgt im Minimum der Sojaverbrauch ein Drittel des Fleischverbrauches, der auch von den am meisten Soja fressenden Tieren nicht erreicht wird. Auch an Trockensubstanz nehmen die Tiere durchschnittlich mehr Fleisch als Soja auf. Doch ist in dieser Periode das Verhalten nicht mehr so gleichmäßig, es fressen nämlich manche — der Trockensubstanz

¹⁾ Obwohl man von Resultaten aus Laboratoriumsversuchen nicht bedingungslos zur praktischen Anwendung beim Menschen gelangen kann, spricht dieser Versuch doch eindringlich genug dafür, daß das Sojamehl neben Milchpulver ein sehr wertvolles Nahrungsmittel auch für den Menschen sein muß. Denn für menschliche Verhältnisse weist das Sojamehl als weiteren sehr beachtenswerten Vorzug den der Billigkeit auf und angesichts der Möglichkeit, es durch Zugabe von grünen Gemüsen (Wachstumsfaktoren) zu einem vollwertigen Nahrungsmittel zu ergänzen, steht seiner praktischen Anwendung nichts im Wege, insbesondere, als es auch angenehmen Geschmack besitzt.

nach — mehr Fleisch, andere mehr Soja. Hiermit ist also bewiesen, daß der Quellungszustand der Eiweißkörper in der Nahrung bei der Auswahl seitens der Tiere bestimmend wirkt, als weiterer Beweis dient das Verhalten der Tiere, wenn man ihnen, wie in anderen Versuchen, trockenes und gequollenes Mehl vorsetzt. Sie nehmen dann viel weniger Trockensubstanz in Form des gequollenen Mehls als in trockener Form auf.

In der dritten Periode haben wir die Wirkung der Extraktivstoffe geprüft¹⁾, dabei sehen wir den Sojaverbrauch im Mittel sehr bedeutend

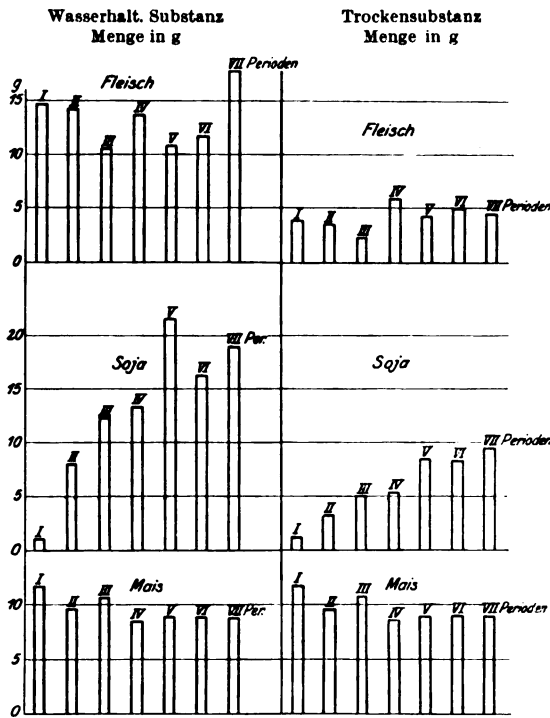


Diagramm III. Auswahlversuch: Mais, Soja, Fleisch.

zu-, den Fleischverbrauch abnehmen. Von den 6 Tieren fressen 5 mehr Soja als Fleisch der Menge nach, nur ein einziges Tier bleibt bei Fleisch als Vorzugsnahrung. Aber doch auch nur mit geringem Überwiegen, so daß nach dem Trockengehalt sämtliche Tiere mehr Soja als Fleisch zu sich nehmen. Die Entfernung der auch vom Menschen so geschätzten Extraktivstoffe vermindert auch für das Tier den Wert des Fleisches.

¹⁾ Um die Extraktivstoffe zu entfernen, wurde das Fleisch in genügend zerkleinertem Zustand gründlich mit Wasser verrührt, eine Zeitlang stehen gelassen und durch ein Tuch abgepreßt, welche Prozedur vor jeder Verfütterung wiederholt wurde.

Diese Veränderung ist aber keinesfalls so groß wie durch die Überführung des trockenen in gequollenes Eiweiß.

In dem folgenden Zeitraum erhalten die Tiere das Fleisch gekocht. Sowohl Soja- als Fleischverbrauch nehmen zu, jedoch wächst die Menge der Trockensubstanz des aufgenommenen Fleisches plötzlich auf das 3fache der Sojatrokensubstanz. Der Menge nach fressen aber die Tiere etwas weniger von dem gekochten als vom rohen Fleisch. In der 5. Periode erhalten die Tiere das gekochte Fleisch extrahiert, daraufhin nimmt der Sojaverbrauch wieder sehr beträchtlich zu, der Fleischverbrauch sinkt bis zu demselben Punkt, den schon das rohe extrahierte Fleisch eingenommen hat. Es erweckt den Anschein, als ob die Tiere das Fleisch nach Volumen und nicht nach seinem Gehalt an Trockensubstanz fressen. Während dieser Periode übertrifft der Verbrauch von Soja immer ganz beträchtlich den des Fleisches. Aus diesem Versuch erhellt, daß die Tiere das extrahierte Fleisch, einerlei ob roh oder gekocht, regelmäßig weniger werteten als die Sojabohne, die sie hingegen dem Fleisch in natürlichem Zustand unterordnen. Und zwar ist das Verhältnis Fleisch-Soja bei rohem wie auch bei gekochtem Fleisch auf Trockensubstanz berechnet, in beiden Perioden gleich (1,13).

Wir haben noch mittelst einer anderen Herstellungsmethode das Soja-Eiweiß in gequollenen Zustand überführt und dieses mit Soja II bezeichnet. Diese biologische Prüfung soll erst später des Näheren mitgeteilt werden. Bei Verwendung des Soja II sahen wir während der 6. und 7. Periode einen größeren Verbrauch als von rohem und gekochtem Fleisch und zwar sowohl dem Gewichte nach als auch nach der Trockensubstanzmenge. Dies Verhalten zeigte sich ohne Ausnahme. Daraus geht hervor, daß wir mit Hilfe des Auswahlversuches imstande sind, Nahrungsmittel tatsächlich Analysen zu unterziehen, da wir die Tiere schon auf geringe Änderungen von Eigenschaften eines Nahrungsmittels prompt reagieren sehen und sie durch das sofort erfolgende Übergehen zu einer besser zusagenden Nahrung auf die Wirkungsart der Veränderung hinweisen. Wir konnten aber unsere Versuchstiere auch dazu

Tabelle LXXII.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl, Fleisch. Mittelwerte.

Art der Zubereitung	Mittlerer tägl. Verbr. in g			Mittlerer tägl. Verbr. in g		
	Mais-mehl	Soja-mehl I.	Fleisch	Mais-mehl	Soja-mehl II.	Fleisch
Sojamehl	12,1	1,05	3,75	—	—	—
Fleisch roh	9,8	3,14	3,55	9,0	9,4	4,5
Fleisch roh extrah.	10,9	4,9	2,25	—	—	—
Fleisch gekocht	8,7	5,3	6,0	9,1	8,2	5,05
Fleisch gekocht extrah.	9,1	8,3	4,2	—	—	—

bringen, daß sie von dem pflanzlichen Eiweiß mehr verzehrten als von dem von ihnen sonst so sehr bevorzugten Fleisch.

Tabelle LXXIII.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl, Fleisch. Mittelwerte der verbrauchten wasserhaltigen Nahrung.

Art der Zubereitung	Mittleres tägl. Verbr. in g			Mittlerer tägl. Verbr. in g		
	Malsmehl	Sojamehl I.	Fleisch	Malsmehl	Sojamehl II.	Fleisch
Sojamehl	12,1	1,05	15,05	—	—	—
Fleisch roh	9,8	8,2	14,3	4,0	18,95	18,09
Fleisch roh extrah.	10,9	12,6	10,5	—	—	—
Fleisch gekocht	8,7	13,6	13,9	9,1	16,4	11,8
Fleisch gekocht extrah.	9,1	21,4	10,7	—	—	—

γ) Ei.

Dieser Versuch wurde parallel mit dem vorigen Versuch ausgeführt, die Eier wurden nur in gekochtem Zustand gereicht.

In der ersten Periode erhalten die Tiere Maismehl, Sojamehl und gekochte Eier. Der wasserhaltigen Menge nach fressen die Tiere am meisten Ei, weniger Mais, am wenigsten Soja. Nach Trockensubstanz gerechnet wird ebensoviel Soja wie Ei verbraucht, nur ist das Verhalten der Tiere diesbezüglich nicht regelmäßig.

In der dritten Periode werden die gekochten Eier extrahiert in der Weise, daß sie 3 mal innig mit Wasser verrührt und abgepreßt werden. In dem Fall spielen die Extraktivstoffe keine Rolle. Die Operation wurde nur durchgeführt, um gründlichere Vergleichsmöglichkeiten zu schaffen. Als Folge sehen wir merk-

würdigerweise den Eiverbrauch stark zunehmen, so daß im Mittelwert die verbrauchte Menge verdoppelt ist. Bei allen 6 Tieren erscheint die Zunahme nachweisbar.

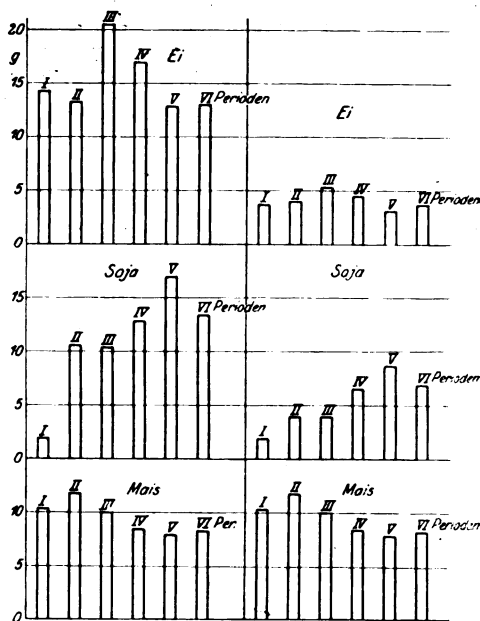


Diagramm IV. Auswahlversuch: Mais, Soja, Ei.

Tabelle LXXIV. Auswahlversuch: Maismehl, Soja, Ei.

Nahrung	Verbrauch von wasserhaltiger Nahrung pro Tag in g										Verbrauch von Trockensubstanz pro Tag in g									
	Datum (Periode)	Tag in Z	Mais		Soja		Ei	Gesamt	Mais	Soja		Ei	Soja u. Ei		Gesamt					
			♂	♀	♂	♀				♂	♀		♂	♀						
Maismehl, Sojamehl, gekochtes Ei	14. - 22. VI.	8	1	10,3	9,7	0,5	15,6	26,4	10,3	9,7	0,5	3,7	3,9	3,5	4,4	7,2	14,7			
		2				3,7	13,9	27,3												
		3	3	11,4	12,5	1,6	13,5	26,5	11,4	12,5	1,6	3,1	3,4	4,2	5	7,3	16,4			
		4				3,1	16,7	32,3												
		5	5	8,9		1,7	13,3	23,9	8,9		1,7		3,3		5		13,9			
		6				0,4	13,0	21,5				0,4		3,2		3,6	11,7			
Mittelwerte:				10,2	10,1	1,3	14,1	25,6	10,2	10,1	1,3	2,4	3,5	3,6	4,8	6	15			
Mais, Soja I, gekochtes Ei	22. VI. - 1. VII.	9	1	13,2	9,7	12,7	11,5	37,4	13,2	9,7	4,95	4,3	2,9	3,55	5,4	7,7	21,05			
		2	3	11,5		19,1	14	34,6	11,5		3,5	4,6	3,5	3,4	7	18,5	17,4			
		3	4	11,3		11,9	15	36,0	11,3		3,9	4,6	3,8	3,2	7,7	19,1	19,1			
		4	5	11,4		10,1	15	36,5	11,4		3,9	4,6	3,8	3,2	7,7	19,1	19,1			
		5	6	9,4		8,4	12,3	33,1	9,4		2,27		3,1		5,37		14,77			
		6																		
Mittelwerte:				12,0	10,1	10,6	10,4	13,5	12,9	36,2	33,5	12	10,1	3,9	3,7	4,4	3,2	7,5	6,9	19,5
Maismehl, Soja I, extra- hieres gekochtes Ei	1. - 11. VII.	10	1	12,2	9,4	8,9	10,1	42,1	12,2	9,4	3,47	3,9	5,2	5,2	8,67	9,1	20,87	18,5		
		2	3	9,6	11,7	12,5	19,5	43,2	9,6	4,56	4,87	5,5	4,9	10,1	9,77	18,6	18,07			
		3	4	8,3	11	7,8	18,5	37,8	8,8	11,5	3	4,29	3	4,6	7,6	19,1	19,1			
		4	5	8,8																
		5	6	11,5																
		6																		
Mittelwerte:				10,2	9,7	10,5	10,1	21,6	19,7	42,3	39,5	10,2	9,7	4,1	3,7	5,4	4,1	9,5	8,6	19,7
Maismehl, Soja I, gekochtes Ei	11. - 22. VII.	11	1	9,7	9,95	10,3	20,6	40,9	9,95	9,7	3,9	4,2	5,15	9,05	1,95	20,5	20,3			
		2	2	9,5	13,2	16,7	16,9	39,6	9,7	9,5	6,6	6,6	4,2	4,2	10,8	10,8	17,85	17,5		
		3	3	7,3	12,3	17,4	37,0	35,1	7,3	6,8	6,6	6,6	4,4	4,1	15,55	10,7	20	18,5		
		4	4	6,8	11,6	17,3	38,8	39,1	9,9	7,0	5,8	4,3	4,6	11,5	11,5	19,4	18,8			
		5	5	9,9	13,8	18,3	39,1	38,5	8,9	7,8	6,2	6,7	4,3	4,3	10,5	11	19,4	18,8		
		6	6	8,9	12,4	13,1	17,1	36,9	8,9	7,8	6,2	6,7	4,3	4,3	10,5	11	19,4	18,8		
Mittelwerte:				8,9	7,8	12,4	13,1	17,1	17,1	36,9	36,9	8,9	7,8	6,2	6,7	4,3	4,3	10,5	11	19,4

22.—30. VIII.	1	3,8	7,6	10,1	17,5	14,1	39,2	7,6	8,8	2,9	3,1	11,9	19,5
	2	5,4	20,4	13,6	13,6	14,1	39,4	5,4	10,2	2,9	13,1	18,5	19,1
	3	5,4	7,8	16,7	13,4	12,5	38,8	9,6	8,4	2,75	11,15	20,75	19,1
	4	9,6	6,7	13,8	10,1	10,1	30,6	6,7	7,0	2,2	9,2	16,2	16,2
	5	9,6	6,7	13,8	10,1	10,1	30,6	6,7	7,0	2,2	9,2	16,2	16,2
	6	9,6	6,7	13,8	10,1	10,1	30,6	6,7	7,0	2,2	9,2	16,2	16,2
Mittelwerte:													
30.VII.—1.VIII.	1	10,3	8,7	13,4	12,7	14	37,7	10,3	6,7	5	11,7	11,1	33,7
	2	5,6	15	13,2	12,7	12,7	34,1	8,7	6,4	4,7	12	9,1	30,9
	3	5,6	9	10,2	10,4	10,4	29,6	9,3	5,1	4	11,5	12,5	27,2
	4	9,3	5,7	15	13,7	13,7	34,4	5,7	7,5	5	11,5	12,5	32,3
	5	9,3	5,7	15	13,7	13,7	34,4	5,7	7,5	5	11,5	12,5	32,3
	6	9,3	5,7	15	13,7	13,7	34,4	5,7	7,5	5	11,5	12,5	32,3
Mittelwerte:													
22.—30. VIII.	1	8,4	7,8	13,8	12,6	13,7	32,7	8,4	7,8	4,5	4,9	11,2	30,2
	2	8,1	13,2	13,2	13	13	34,3	8,1	6,4	4,7	11,1	30,3	30,3
	3	8,1	13,2	13,2	13	13	34,3	8,1	6,4	4,7	11,1	30,3	30,3
	4	8,1	13,2	13,2	13	13	34,3	8,1	6,4	4,7	11,1	30,3	30,3
	5	8,1	13,2	13,2	13	13	34,3	8,1	6,4	4,7	11,1	30,3	30,3
	6	8,1	13,2	13,2	13	13	34,3	8,1	6,4	4,7	11,1	30,3	30,3
Mittelwerte:													

 Maismehl,
Soja II,
gekochtes
Ei

 Maismehl,
Soja II,
gekochtes
Ei

Die vierte Periode ist mit der zweiten identisch, doch geht der Eiverbrauch nicht so weit hinunter, als er in der zweiten Periode stand.

In der fünften Periode lassen wir an Stelle Soja I Soja II treten, welches die Tiere schon im Fleischversuch dem ersten vorgezogen haben. Hierauf schnellte der Sojaverbrauch hinauf und der Eikonsum sinkt. Sowohl dem nassen Gewicht nach als auch in bezug auf die Trockensubstanz übertrifft nun die Menge der verzehrten Soja II die des Eies. Dem Trockensubstanzgehalt nach verzehren die Ratten fast 3 mal mehr Soja II als Ei. Ähnlich wie im Fleischversuch tritt auch hier eine ziemlich genaue Kompensation in der Nahrung ein. Wenn Eier verschmäht werden, steigt der Sojaverbrauch und umgekehrt, wobei die Summe beider ziemlich konstant bleibt. Die beiden eiweißhaltigen Nahrungsmittel kompensieren sich gegenseitig.

Im folgenden sollen beide Versuche miteinander verglichen werden. Während der ersten Periode fressen die Tiere mehr Fleisch als Ei. Der Sojaverbrauch ist im Eiversuch größer. Die Analogie in der zweiten Periode: das in gequollenem Zustand befindliche Soja I wird von den Eitieren in viel größerem Maße zur Deckung des Eiweißbedarfes herangezogen als von den Fleischtieren. Dementsprechend wird der Eiverbrauch in diesem Zeitraum viel geringer als der Fleischverbrauch, der Sojaverbrauch hingegen im Eiversuch viel höher als im Fleischversuch. Das gegensätzliche Verhalten der Tiere bei extrahiertem Ei resp. Fleisch haben wir schon erwähnt. Auch daß Soja II in beiden Versuchen gleicherweise dem Soja I vorgezogen wird. Interessanterweise ist sogar quantitativ das Verbrauchsverhältnis

dasselbe wie bei Ei und Fleisch, wie aus folgender Tabelle hervorgeht.

Hier sei auch darauf hingewiesen, daß die Gewichtszunahme der Eitiere beträchtlich größer ist als der Fleischtiere, was jedenfalls in

Tabelle LXXV.
Auswahlversuch: Maismehl, Soja, Fleisch.

	Soja I		Soja II	
	Soja	Fleisch, bzw. Ei	Soja	Fleisch, bzw. Ei
Fleischversuch . . .	13,6	13,9	16,4	11,8
Eierversuch	10,5	13,2	16,85	12,95

der stärkeren Wirkung des fettlöslichen Nährfaktors der Eier begründet ist. Die Resultate dieser Versuche sind dahin zusammenzufassen: 1. Der Verbrauch von Fleisch, Eier, Soja neben einem hauptsächlich kohlenhydrathaltigen Nahrungsmittel bei freier Auswahl verläuft ganz regelmäßig, insofern als die Differenzen zwischen den Individuen minimale sind. 2. Auf chemisch unbedeutende Veränderungen der Nahrungsmittel reagieren die Tiere bei der instinktiven Auswahl in scheinbarer Unverhältnismäßigkeit, wenn auch analog dem menschlichen Geschmack. 3. Den besonderen Wert des Fleisches bedingen teils der kolloidale Zustand seiner Eiweißkörper, teils seine Extraktivstoffe. Andere biologische Wirkungen, die in Betracht kommen können, z. B. sein Hämoglobingehalt, müssen erst einer näheren Prüfung unterzogen werden. 4. Die verschiedenen eiweißhaltigen Lebensmittel werden vom Tiere kompensatorisch verbraucht. Wir können die Ratten, die ebenso wie der Mensch, von Natur aus die animalischen Nahrungsmittel bevorzugen, dazu bringen, sich in ihrer Auswahl mehr den vegetabilischen Nährstoffen zuzuwenden.

d) Über die Wirkung des Hämoglobins auf die Aufnahme von Pflanzeneiweiß.

- Dieser Versuch wird deswegen hier angeführt, weil wir infolge der Aufnahme von sehr geringen Quantitäten eines Nährmittels (Hämoglobin) die Verbrauchsmenge des eiweißhaltigen Soja bedeutend erhöht finden. Das Hämoglobin wurde in Form eines käuflichen Präparates neben dem bereits erwähnten Sojamehl verwendet.

Die Tiere fressen wie in allen Versuchen am meisten Mais, weniger Soja, der Verbrauch des Blutpräparates ist durchwegs minimal. Man kann aber schon eine in der 3. Versuchswoche beginnende, sehr bedeutende Zunahme des Sojaverbrauches beobachten, die bis zum Tode der Tiere anhält. Dieser Versuch ist recht geeignet, die Resultate des

Tabelle LXXVI.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl 0, Hämoglobin.

Datum	Mittleres Gewicht g	Tage	Mengen der von 6 Tieren im Mittel verzehrten Nahrungsmittel in g				Bemerkungen
			Maismehl	Sojamehl 0	Hämoglobin	Gesamt	
21. II.	125,6	—	—	—	—	—	—
22. II.	—	1	5,8	2,3	0,2	8,3	—
23. II.	—	1	7,1	3,6	0,1	10,8	† Nr. 3
24. II.	—	1	7,0	2,3	0,85	10,1	—
25. II.	—	1	7,5	2,3	0,3	10,1	—
26. II.	—	1	9,7	3,2	0,3	13,2	—
28. II.	—	2	9,2	2,0	0,24	11,2	—
3. III.	124,5	—	—	—	—	—	—
7. III.	—	9	11,54	2,0	0,4	14,0	—
12. III.	132,6	—	—	—	—	—	—
14. III.	—	7	13,0	4,3	0,2	17,5	—
19. III.	132,0	—	—	—	—	—	—
29. III.	—	15	11,09	7,02	0,6	18,7	—
30. III.	126,4	—	—	—	—	—	—
6. IV.	114,0	—	—	—	—	—	Nr. 6 † 9. IV.
12. IV.	—	14	10,58	7,4	0,8	18,78	„ 4,5 † 11. IV. „ 2 † 13. IV. „ 1 † 14. IV.

Fleischversuches in ein neues Licht zu stellen, wenn man die Rolle erwägt, die das Hämoglobin dabei spielen könnte. Wiewohl die Aufnahme von Blut seitens der Ratte wie des Menschen eine ganz unbedeutende ist, wirkt sie doch bei der Auswahl der übrigen Nahrungsmittel bestimmend mit. Wenn auch die vorher erwähnte Analogie nicht genügend beweisend ist, geht doch aus diesem Versuch klar hervor, daß die Nahrungsaufnahme in erheblicher Weise von den Begleitnahrungsmitteln abhängt, worauf allerdings schon die menschlichen Gewohnheiten hingewiesen haben. Die Lebensdauer der Tiere zeigt in diesem Versuch nur sehr geringe Unterschiede, welche aber wie im Milchversuch mit der Ernährung zusammenzuhängen scheinen.

Aus den Einzelwerten ersehen wir einen ganz charakteristischen Ablauf der Nahrungsaufnahme und nur minimale individuelle Differenzen. In quantitativer Hinsicht stimmen hingegen die Resultate bei den beiden Geschlechtern nicht überein, da die Männchen eine geringere

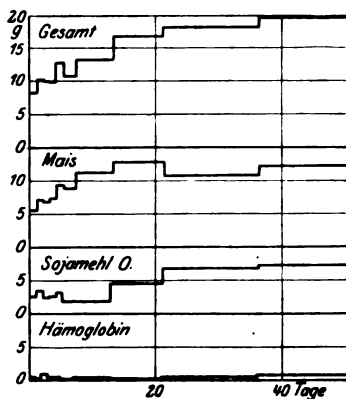


Diagramm V. Auswahlversuch: Maiss, Sojamehl 0, Hämoglobin.

Zunahme des Sojaverbrauches aufweisen als die Weibchen, so daß letztere vor dem Tode regelmäßig mehr Soja verzehren als Mais. Diese Erscheinung läßt sich auch am Verbrauch der Gesamtnahrung demonstrieren.

Tabelle LXXVIII.

Auswahlversuch: Maismehl, Sojamehl, Hämoglobin. Gesamtverbrauch und mittlerer täglicher Nahrungsverbrauch.

Nr. des Tieres	Geschlecht	Anfangsgewicht g	Lebensdauer Tage	Gesamtnahrungsverbrauch in g				Mittl. tgl. Nahrungsverbrauch in g			
				Maismehl	Sojamehl	Hämoglobin	Gesamt	Maismehl	Sojamehl	Hämoglobin	Gesamt
1	♂	105	52	657,4	147,0	22,2	826,6	13,1	2,9	0,4	16,4
2	♀	81	47	546,1	306,1	27,0	879,2	10,9	6,0	0,5	17,4
4	♀	111	48	409,5	396,3	16,6	822,4	9,7	9,4	0,4	19,5
5	♀	227	49	678,9	113,9	24,9	817,7	13,6	2,3	0,5	16,4
6	♀	88	47	422,7	257,7	31,9	712,2	9,0	5,5	0,7	15,2

Sowohl der Gesamt- als auch der mittlere Tagesverbrauch beträgt für die Weibchen ein Vielfaches von dem für die Männchen ermittelten. Besonders augenfällig wird dieser Unterschied, wenn wir die pro Gramm Körpergewicht im täglichen Durchschnitt verbrauchte Sojamenge berechnen. Sie ist im Minimum $2\frac{1}{2}$ mal so groß für Weibchen als für Männchen; im Maximum macht ihre Größe das 9fache aus.

Dieser in keinem der vorhergehenden Versuche beobachtete, unglaublich hohe Eiweißverbrauch scheint die Tiere direkt zu schädigen, da die Weibchen früher sterben als die beiden Männchen. Es wird Aufgabe weiterer Versuche sein, diese immerhin auffallenden Erscheinungen zu klären — infolge der verschiedenen Anfangsgewichte der Tiere und ihrer abweichenden Ernährungsweise ist dieser Versuch mit anderen nicht gut zu vergleichen — bis jetzt konnte nur aus anderen Versuchen erschlossen werden, daß bei nicht so konzentrierter Eiweißnahrung die Tiere länger leben. Als Resultat dieses Versuches möge der Hinweis auf die Gleichmäßigkeit des Nahrungsverbrauches genügen und auf die ganz unglaublich steigernde Wirkung die eine in den geringsten Mengen verzehrte Zusatznahrung auf den Verbrauch der übrigen Nahrungsmittel ausüben kann.

e) Die künstliche Veränderung von Mais.

a) Durch Zusatz von Salz bzw. Zucker.

Aufgabe dieses Versuches war, die Bedingungen für den auffallend hohen Maisverbrauch der Ratten zu untersuchen. Der Mais wurde für je 3 Männchen mit 5% NaCl, 5% KCl und 10% Zucker versetzt. Daneben wurden reines Maismehl und Sojamehl gereicht.

a) KCl-Versuch. Die mit KCl versetztem Mais gefütterten Tiere verzehrten von diesem nur um ein geringes weniger als von dem reinen

Mais und starben nach 6 Tagen. Der Sojaverbrauch wurde nur für die ersten 2 Tage bestimmt und erwies sich der normalen Menge entsprechend. Ein drittes ebenso ernährtes Männchen, welches zu einer anderen Zeit in Versuch genommen wurde, starb am 7. Versuchstag. Dahingegen 2 Männchen, die nur mit Mais und Sojamehl 0 in einem anderen Versuch ernährt wurden, 125 bzw. 139 Tage lebten, sind wir zu der Annahme berechtigt, daß der vorzeitige Tod auf den Kaliumverbrauch zurückzuführen ist. Damit ist also bewiesen, daß der Instinkt auf die Wahrnehmung einer künstlichen Verschlechterung der Nahrung nicht eingerichtet ist. Diese Beobachtung ist um so merkwürdiger und interessanter als Urbeanu behauptet hat, daß der Mangel an Kalium — zwar in Form organischer Salze — die biologische Minderwertigkeit des Maises bedingt.

Tabelle LXXIX.

Auswahlversuch: Maismehl allein, Maismehl + KCl, Sojamehl 0.

Datum	Gewicht g	Tage	Die von 3 Männchen täglich im Mittel verzehren Mengen in g			
			Mais- mehl	Maism. + 5% KCl	Soja 0	Gesamt
29. III.	103, 109, 133	—	—	—	—	—
31. III.	—	2	6,15	5,5	3,6	15,25
5. IV.	† 3 ♂	5	6	5,5	—	—

1. Zu den Urbeanuschen Versuchen muß noch bemerkt werden, daß es sich bei den von ihm beschriebenen Erscheinungen wahrscheinlich um Rattenkrätze handelt, wie sie schon von Fiebiger bei den Steinachschen Versuchen beobachtet wurde. Dazu sei hinzugefügt, daß diese Krätze scheinbar wirklich viel öfter bei den im einseitigen Ernährungsversuch gehaltenen Tieren auftritt als bei normal lebenden (Zuchttieren).

NaCl - Versuch. Die Tiere verzehren regelmäßig bedeutende Quantitäten von dem mit 5% NaCl versetzten Mais, hie und da sogar mehr davon als von reinem Mais. Das Resultat ist dem des Kaliumversuches ganz ähnlich: Auch diese Tiere leben viel kürzer als die Tiere, die ihre Nahrung ohne Salzzusatz erhalten, und zwar ist die Lebensdauer des am längsten lebenden Individuums etwas länger als die Hälfte der Lebenszeit der salzlos ernährten Tiere.

C. Zuckerversuch. Die Tiere fressen fast dieselbe Menge von zuckerhaltigem (10proz. Rohrzuckermais) wie von dem reinen, sie wechseln aber ständig zwischen den beiden. Im Gesamtverbrauch steht der gezuckerte Mais über dem unvermischten. Ein Tier stirbt nach 10 Tagen, die beiden anderen überleben es genau gleichlange um 114 Tage, erreichen also eine ebensolange Lebensdauer wie die bloß mit Mais und Soja ernährten Tiere. Die Beobachtungen beschränken

Tabelle LXXX.

 Auswahlversuch: Maismehl allein, Maism. + NaCl,
Sojamehl 0.

Datum	Gewicht g	Tage	Die von 3 Männchen pro Tag im Mittel verzehrten Mengen in g			
			Mais- mehl	Maism. + NaCl	Soja- mehl 0	Gesamt
29. III.	$\begin{cases} \sigma 93 \\ \sigma 107 \\ \sigma 117 \end{cases}$	—	—	—	—	—
31. III.		2	6,47	5,15	3,25	14,87
6. IV.	$\begin{cases} \sigma 74 \\ \sigma 82 \\ \sigma 97 \end{cases}$	6	4,3	4,6	2,5	11,4
13. IV.	$\begin{cases} 65 \\ 72 \\ 82 \end{cases}$	—	—	—	—	—
14. IV.		8	6	4	0,6	10,6
16. IV.	$\sigma +$	—	—	—	—	—
20. IV.	$\begin{cases} 68 \sigma + \\ 85 \sigma + \end{cases}$	6	7,4	4,7	2,2	14,3
26. IV.		6	11,2	6,7	3,4	21,3
28. IV.	70, 70	—	—	—	—	—
3. V.	$\sigma + \sigma$	7	11,5	3,9	3	18,4
10. V.	100	7	17,0	18,6	7,1	42,7
20. V.	110	10	10	12	4,5	26,5
30. V.	130	—	—	—	—	—
1. VI.		12	15	13	4	32
8. VI.	σ	7	8,1	5,7	2,7	16,5

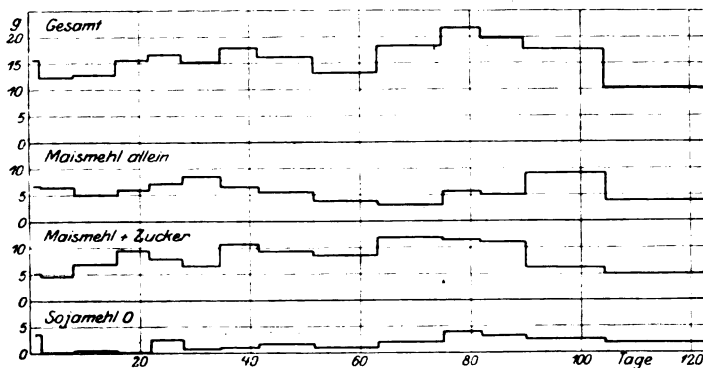


Diagramm VI. Auswahlversuch: Maismehl, Maismehl + Zucker, Sojamehl 0.

sich auf die Feststellung, daß Zuckerzusatz den biologischen Wert der Nahrung nicht verändert und daß — wenn wir das gleichzeitige Ableben der beiden anderen Tiere in Betracht ziehen — wir dem frühen Tod des ersten eine außerhalb der Versuchsbedingungen gelegene Ursache zugrunde legen müssen. Es scheint also diesmal ein krankes Tier in den Versuch eingestellt worden zu sein.

Tabelle LXXXI.

Auswahlversuch: Maismehl allein, Maismehl + Zucker, Sojamehl 0.

Datum	Gewicht g	Tage	Die von 8 Männchen pro Tag im Mittel verzehrten Mengen in g			
			Maismehl	Maism. + 10 % Zucker	Sojamehl D	Gesamt
29. III.	♂ 137, ♂ 126, ♂ 149					
31. III.		2	6,6	5,15	3,3	15,05
6. IV.	♂ 105, ♂ 95, ♂ 127	6	6,3	4,7	0,1	11,1
13. IV.	{ 110, 130 } { ♂ 8. IV. 84 }					
14. IV.		8	5	7	0,4	12,4
20. IV.	♂ 110, ♂ 127	6	5,8	9,3	0,1	15,2
26. IV.		6	7,1	7,9	2,4	17,4
28. IV.	♂ 110, ♂ 125					
3. V.		7	8,3	6,4	0,4	15,1
10. V.	♂ 120, ♂ 120	7	6,5	10,5	0,7	17,7
20. V.	♂ 130, ♂ 130	10	11	18,5	2,5	32,0
30. V.	♂ 130, ♂ 130					
1. VI.		12	3,9	8,6	0,7	13,2
13. VI.		12	4,3	12	2	18,3
20. VI.	♂ 125, ♂ 125	7	6	11,6	3,9	21,5
28. VI.		8	5,2	11,2	3	19,4
30. VI.	♂ 135, ♂ 135					
13. VII.		15	9,2	6,4	2,3	17,9
18. VII.	♂ 126, ♂ 125					
28. VII.	♂ 103, ♂ 102					
1. VIII.	♂ 85, ♂ 81	18	3,6	5	1,5	10,1

Tabelle LXXXII.

Auswahlversuch: Maismehl, Maismehl + KCl, bzw. NaCl, bzw. Zucker, Sojamehl.

Geschlecht	Maismehl + Zusatz	Mittlerer täglicher Verbrauch an:					
		Maismehl	Mais + Zusatz	Gesamt-Maisverbrauch	Sojamehl	tägl. Gesamtverbrauch	%, Soja in der Gesamtnahrung
		g	g	g	g	g	
♂	Mais + KCl	6,05	5,5	11,55	(3,6)	15,15	24
♂	Mais + NaCl	10,2	8,6	18,8	3,4	22,2	15
♂	Mais + Zucker	6,2	8,9	15,1	1,6	16,7	10
Tier 1 ♂	Mais allein	—	—	19,9	2,7	22,6	12
Tier 2 ♂	"	—	—	16,0	2,3	18,3	13

In Tabelle LXXXI ist die mittlere Nahrungsaufnahme der Tiere von den 3 vorher behandelten Versuchen zusammengestellt. Der Sojaverbrauch tritt ersichtlich für den Maisverbrauch kompensatorisch

ein, und zwar in dem Sinne, daß je schlechter der Einfluß, den der Zusatz der Chemikalien auf den Mais ausübt, desto mehr (prozentuell) vom Sojamehl gefressen wird. Entsprechend wenig Soja wird im Zucker- versuch aufgenommen, da die Tiere den gesüßten Mais vorziehen. Das Verhältnis Mais : Mais + Zusatz bestärkt die bisher gemachten Beobachtungen, nämlich, daß die Tiere die lebenverkürzenden Faktoren erkennen und meiden. Sie fressen durchschnittlich etwas mehr von dem reinen Mais als von dem mit Salzzusatz. Die Differenz ist aber minimal und kann nicht das erwünschte Resultat — die Fristung des Lebens für den entsprechenden Zeitraum — herbeiführen. Bedeutend ist dagegen der Verbrauch von gesüßtem und jedenfalls unschädlichem Mais. Die Tiere setzen uns hingegen nicht in den Stand, den Unterschied in der schädigenden Wirkung von NaCl und KCl zu erkennen, da sie der Annahme entgegen ersteres sogar mehr zu meiden scheinen als letzteres. Dieser Versuch liefert einen neuerlichen Beweis für die richtige Einschränkung der tierischen Triebssicherheit insofern, als diese nicht imstande ist, künstlich verschlechterten Nahrungsmitteln auszuweichen.

β) Mais mit Kotzusatz.

Auch dieser Versuch sollte zur Klärung der Maisfrage dienen, um nämlich festzustellen, ob der unter normalen Bedingungen für die

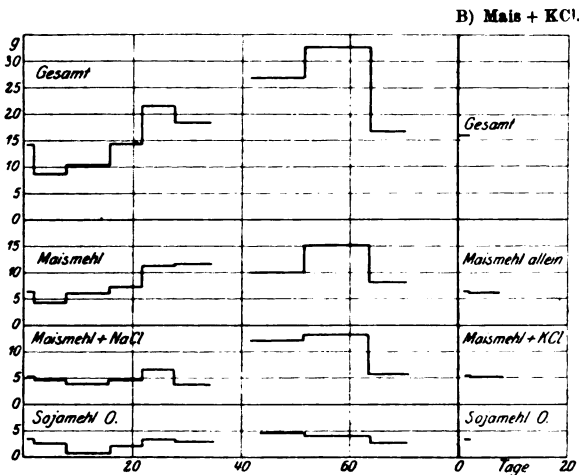


Diagramm VII. Auswahlversuch: Maismehl, Maismehl + NaCl, Sojamehl 0.

Tiere eventuell verlockende Geruch oder Geschmack seine bevorzugte Stellung als Nahrungsmittel verursacht und ob diese Eigenschaften, wenn die Annahme zutrifft, durch die entsprechenden des Kotes verdeckt oder in den Tieren in widerliche verwandelt werden können.

Tabelle LXXXIII.
Auswahlversuch: Maismehl rein, Maismehl + Faeces, Sojamehl 0.

Datum	Gewicht g	Tage	Die von den Tieren im Mittel verzehrten Nahrungsmittel pro Tag in g			
			Maismehl	Maismehl + Faeces	Sojamehl 0	Gesamt
22. III.	160,3					
23. III.	—	1	5,3	5,1	3,3	13,7
24. III.	—	1	9,7	9	2,7	21,4
29. III.	—	5	12,9	2,8	0,7	16,4
30. III.	158					
5. IV.	—	7	11,8	5	1,1	18,6
6. IV.	—					
13. IV.	140,3					
20. IV.	143,3					
21. IV.	—	16	8,7	4,7	0,4	13,8
28. IV.	—	7	7,6	8,8	1,3	17,7
29. IV.	155					
2. V.	—	4	10,4	15,4	1,1	26,9
10. V.	—	8	8,8	11,6	0,2	20,6
19. V.	—	9	10,8	11,6	2,4	24,8
20. V.	148					
30. V.	166,7	11	12,2	7,9	2,7	22,8
7. VI.	—	8	10,6	8,3	0,4	19,3
16. VI.	—	9	8,7	6,5	1,8	17,0
18. VI.	170,7					
23. VI.	—	7	7,3	17,1	4,3	28,7
30. VI.	176,6					
1. VII.	—	8	12,2	14,9	0,6	27,7
4. VII.	† ♂ 184					
8. VII.	160					
14. VII.	—	13	7,6	13,2	3,2	24,0
19. VII.	154,5					
28. VII.	142,5					
1. VIII.	+ ♂					
5. VIII.	—	22	7,4	5,45	2,05	14,9
13. VIII.	—	8	7,9	17,3	1	26,2
17. VIII.	♂ 200					
26. VIII.	—	13	10,6	17,3	0,8	28,7
2. IX.	♂ 203					
8. IX.	† ♂ 200	13	11,7	14,7	0,9	27,3

Bei Zusatz von 5% Kottrockensubstanz zu Maismehl sehen wir gar keinen Unterschied in der verzehrten Menge, weshalb wir den Gehalt später auf 10% erhöht haben. Davon fressen die Tiere den Erwartungen entsprechend viel weniger, aber nur ungefähr 3 Wochen lang, dann gehen sie zu dem so verdorbenen Mais über, sie nehmen von diesem einen Monat lang — mit einer kurzen Unterbrechung — mehr zu sich als von dem reinen, um späterhin wieder den reinen vorzuziehen. Nach dieser beiläufig 2 Wochen dauernden Periode fressen die überlebenden Tiere ausnahmslos viel mehr von dem mit Kot ver-

setzten Mais, so daß dessen Gesamtverbrauch in dieser Periode direkt auffallend wird. Ein Vergleich der insgesamt aufgenommenen Nahrung fällt aber doch zugunsten des reinen Maises aus.

Tabelle LXXXIV.

Auswahlversuch: Mais (rein), Mais + Kotzusatz, Sojamehl 0.

Datum	Gewicht g	Tage	Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				
			Maismehl	Maismehl + Faeces	Sojamehl 0	Gesamt	Mais + (Mehl + Faeces)
Tier 1 ♂.							
22. III.	163	—	—	—	—	—	—
23. III.	—	1	4,8	4,7	7,7	17,2	9,5
24. III.	—	1	9,5	10	4,2	23,7	19,5
29. III.	—	5	11,2	—	0,6	—	—
30. III.	173	—	—	—	—	—	—
5. IV.	—	7	14	4	2,6	20,6	18
6. IV.	172	—	—	—	—	—	—
13. IV.	157	—	—	—	—	—	—
20. IV.	150	—	—	—	—	—	—
21. IV.	—	16	8,8	7	0,6	16,4	15,8
28. IV.	—	7	9	10	1,7	20,7	19
2. V.	—	4	8,8	6,5	0	15,3	15,3
10. V.	—	8	10	12,5	0	22,5	22,5
11. V.	160	—	—	—	—	—	—
19. V.	—	9	13,3	12,2	9,1	34,6	25,5
20. V.	170	—	—	—	—	—	—
30. V.	190	11	12,8	8,7	2,3	23,8	21,5
7. VI.	—	8	8	12,5	0	20,5	20,5
10. VI.	175	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	9	4,4	13,9	1,1	19,4	18,3
18. VI.	202	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	9	19,7	1,7	30,4	28,7
30. VI.	210	—	—	—	—	—	—
1. VII.	—	8	14	20	0	34	34
8. VII.	205	—	—	—	—	—	—
14. VII.	—	13	12,9	4,5	2,9	20,3	17,4
19. VII.	207	—	—	—	—	—	—
29. VII.	195	—	—	—	—	—	—
5. VIII.	—	22	8,5	7,3	0,6	16,4	15,8
13. VIII.	—	8	7,9	17,3	1	26,2	25,2
17. VIII.	200	—	—	—	—	—	—
26. VIII.	—	13	10,6	17,5	0,8	28,7	28,1
2. VIII.	203	—	—	—	—	—	—
8. VIII.	+ 200	13	11,7	14,7	0,9	27,3	26,4
Tier 2 ♂.							
22. III.	183	—	—	—	—	—	—
23. III.	—	1	3	9,7	1,2	13,9	12,7
24. III.	—	1	10	10	—	—	20
29. III.	—	5	14,8	1,6	0,3	16,7	16,4
30. III.	173	—	—	—	—	—	—
5. IV.	—	7	12	6	2,9	20,9	18
6. IV.	174	—	—	—	—	—	—

Tabelle LXXXIV (Fortsetzung).

Datum	Gewicht g	Tage	Mengen der pro Tag verzehrten Nahrungsmittel in g				
			Mais-mehl	Maismehl + Faeces	Sojamehl 0	Gesamt	Mais + (Mehl + Faeces)
Tier 2 ♀.							
13. IV.	164	—	—	—	—	—	—
20. IV.	155	—	—	—	—	—	—
21. IV.	—	16	12	2	0,4	14,4	14
28. IV.	—	8	9	5	0,7	14,7	14
2. V.	—	4	15,5	7,1	0	22,6	22,6
10. V.	—	8	8,8	6,9	0	15,7	15,7
11. V.	150	—	—	—	—	—	—
19. V.	—	9	10	15,5	1,1	26,6	25,5
20. V.	170	—	—	—	—	—	—
30. V.	190	11	10,5	11,9	2,3	24,7	22,4
7. VI.	—	8	11,2	11,9	0,6	23,7	23,1
10. VI.	190	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	9	16	0	2,2	18,2	16
18. VI.	200	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	8,1	12,6	4,3	25,0	20,7
30. VI.	200	—	—	—	—	—	—
1. VII.	—	8	16,7	17,9	1,4	36,0	34,6
4. VII.	+ 184	3	5	20	3,6	28,6	25
Tier 3 ♀.							
22. III.	135	—	—	—	—	—	—
23. III.	—	1	8,2	3,8	1	13,0	12
24. III.	—	1	9,5	7	1,1	17,6	16,5
29. III.	—	5	12,86	3,9	1,2	17,96	16,76
30. III.	128	—	—	—	—	—	—
5. IV.	—	7	9,3	—	0	—	—
6. IV.	127	—	—	—	—	—	—
13. IV.	100	—	—	—	—	—	—
20. IV.	125	—	—	—	—	—	—
21. IV.	—	16	5,4	5	0,3	10,7	10,4
28. IV.	—	7	4,7	11,4	1,4	17,5	16,1
2. V.	—	4	6,8	32,5	3,3	42,6	40,3
10. V.	—	8	7,5	16,3	0,6	24,4	23,8
11. V.	110	—	—	—	—	—	—
19. V.	—	9	9	7,2	5,1	21,3	16,2
20. V.	105	—	—	—	—	—	—
30. V.	120	11	13,2	3,2	3,6	20,0	16,4
7. VI.	—	8	12,5	0,6	0,6	13,7	23,1
10. VI.	105	—	—	—	—	—	—
16. VI.	—	9	11,6	5,5	2,2	19,3	17,1
18. VI.	110	—	—	—	—	—	—
23. VI.	—	7	4,8	19	6,9	30,7	13,8
30. VI.	120	—	—	—	—	—	—
1. VIII.	—	8	6	6,7	0,4	13,1	12,7
8. VIII.	115	—	—	—	—	—	—
14. VIII.	—	13	5	15,2	3	23,2	20,2
19. VIII.	102	—	—	—	—	—	—
28. VIII.	90	—	—	—	—	—	—
1. IX.	+ 81	17	6,3	3,6	3,5	13,4	9,9

Aus Tabelle LXXXIV erkennen wir den Maisverbrauch als bei allen Tieren ziemlich gleichmäßig und von individuellen Schwankungen nur wenig gestört. Die einzige Ausnahme bildet Tier 2, aber auch nur in bezug auf den Sojaverbrauch, der lange Zeit hindurch ganz geringfügig ist und erst vor seinem Tode ansteigt. Da die Tabelle die Daten von nur 3 Tieren bringt, ist die Entscheidung über den lebenserhaltenden Wert der Kotalaufnahme schwer zu treffen. Wie aus der Tabelle LXXXV ersichtlich, leben die Tiere 1 und 3 im Durchschnitt länger als die beiden Männchen, die nur Mais und Sojamehl erhielten.

Tabelle LXXXV.

Auswahlversuch: Maismehl, Maismehl + Kot, Sojamehl.
Mittlerer Verbrauch.

Nr. des Tieres	Geschlecht	Anfangsgewicht	Lebensdauer Tage	Mittlerer tägl. Verbr. in g			Maismehl + Kot	100 Soja div. durch Gesamtnahrung
				Maismehl	Maismehl + Kot	Sojamehl		
1	♂	163	170	9,7	4,5	1,5	14,2	11
2	♂	183	104	11,5	8,4	1,4	19,9	7
3	♂	135	132	7,4	6,7	2,2	14,1	16
Nur mit Mais u. So-		1 ♂	207	19,9	19,9	2,7	19,9	14
ja ernährten Tiere		II ♂	112	16,0	16,0	2,0	16,0	13

Bloß Tier 2, das im Sojaverbrauch die Abweichung gezeigt hat, lebt kürzer. Diese Abweichung bezieht sich auch für die Verbrauchswerte der im Kontrollversuch ermittelten Mengen von Sojamehl. Und zwar zeigt es den geringen Sojaverbrauch auch im Vergleich zu den mit nur reinem Mais und Sojamehl gefütterten Tieren. Hingegen weisen die beiden anderen Tiere des Kotversuches im Mittel dieselben prozentuellen Verbrauchswerte (13,5%) auf wie die mit reinem Mais und Sojamehl ernährten Kontrolltiere. Demnach steht das eiweißreiche Sojamehl in bezug auf seinen Konsum in einem ganz bestimmten Verhältnis zum Maismehl und wird nur durch erhebliche Veränderungen des Maiskonsums in seiner Konstanz gestört. (Die Werte des Salz- und Zucker Versuches liegen dieser Grenze nahe.) Dieser Versuch läßt uns vermuten, daß die Tiere durch Kotzusatz Substanzen erhalten, die das Leben in geringem Grade verlängern, nur muß nach diesem Maße die Wirkung dieser Stoffe eine ganz unwesentliche sein. Das Resultat hat also unseren Erwartungen, die Ratten von ihrem großen Maisverbrauch abzubringen, nicht entsprochen. Überraschenderweise haben wir gefunden, daß das hypothetische Abschreckungsmittel, der Zusatz getrockneter Faeces, Substanzen enthält, die das Leben der Tiere im Vergleich zum reinen Maismehl um ein Geringes verlängern können, und dementsprechend besonders zu Ende des Versuchs gefressen werden.

Allgemeiner Teil.

Die Einführung des Elementbegriffes hat sowohl in der Physik wie in der Chemie zu einer mächtigen Entwicklung beider Wissenszweige geführt. Sie bildete die Grundlage für eine exakte Forschung und den Zwang, vage Theorien in eine präzise Form zu bringen. Die Physik stützt sich auf ein Element: die Energie, deren Menge als unveränderlich, deren Verwandlungsfähigkeit als unbeschränkt gilt. Die Chemie arbeitet mit ungefähr 80 Elementen, deren Unveränderlichkeit ihre Haupteigenschaft ausmacht. Verbindungen und Mischungen der Elemente untereinander oder von Elementen mit Verbindungen bilden den Gegenstand der chemischen Untersuchungen. Wenn auch in der Biologie ein präzise gefaßter Elementbegriff nicht vorhanden ist, so besteht doch deutlich bemerkbar das Bedürfnis nach ihm und die Bemühungen, ihn zu finden. Seine erste Formulierung stammt von Harvey: „Omne vivum ex ovo“, zu welchem Gesetz die Pasteurschen Versuche, die den Ausschluß der *generatio equivoca* zur Folge hatten, eine notwendige Ergänzung waren. Eine weitere Folge dieser Versuche war die Erkenntnis, daß Fragen nach der Urzeugung nicht den Gegenstand einer exakten naturwissenschaftlichen Forschung bilden können, da man diesbezügliche Erscheinungen nicht kennt, oder wenn man glaubte, sie zu kennen, sich der Täuschung infolge schlechter Versuchseinrichtungen hingab. Heute haben wir schon in der Chemie gelernt, daß ihre Elemente unveränderlich nur in bezug auf die Affinitätskräfte sind, physikalische Kräfte von anderer Größenanordnung aber ihre Veränderung bewirken können, wie es die Radiologie gezeigt hat. Bevor diese Erscheinungen aber nicht bestätigt waren, hat sich die Chemie mit der Frage nach der Veränderlichkeit der Elemente gar nicht befaßt und alle dahin gerichteten Versuche als bloß spekulativ nicht gewürdigt. Ebenso wenig ist es heute die Aufgabe der experimentellen Biologie, die Frage nach der Existenz der *Generatio equivoca* zu lösen, obwohl sich die Harveysche Fassung des Elementbegriffes als zu eng erwiesen hat. Das Unveränderliche in der Biologie ist ganz anders zu charakterisieren als in der Chemie und Physik. Unveränderlich ist nicht nur die Entstehungsweise eines jeden biologischen Individuums, es ist auch der Ablauf des Lebensprozesses für jedes Einzelwesen über eine bestimmte Weite hinaus unabhängig von den Einwirkungen seiner Umgebung. Die Entwicklung des Individuums ist wohl eine Funktion des Milieus, aber nur bis zu einem bestimmten Grade. Solche Grenzfälle zu bestimmen und komplizierte Veränderungen in einfache Funktionen aufzulösen, ist die Aufgabe der Biologie. Für die biologische Arbeitsweise bedeutet jedes Individuum ein Element, und die Ordnung dieser Elemente ist wohl in Vergleich zu setzen mit der chemischen im periodischen System und besonders in dem neuen mit seinen Plejaden. Von den äußeren auf das biologische Individuum einwirkenden Einflüssen ist nun einer der stärksten die Ernährung. Es ist auch sicher nicht bedeutungslos für die Qualität der Nahrungsmittel, daß sie ihrerseits auch wieder von Lebewesen stammen. Veränderungen, die vom Standpunkt des Chemikers keine oder nur geringfügige sind, können die biologischen Wirkungen der Nahrung oft tiefgreifend verändern, weshalb es Sache der weiteren Forschung auf diesem Gebiete ist, die empirische Bestimmung dieser Veränderungen vorzunehmen. Es liegen uns schon eine Unmenge von hierher gehörenden praktischen Erfahrungen vor, die der Mensch unter Leitung seines Instinktes gesammelt hat und die zunächst mit Hilfe exakter Versuche gesichtet werden müssen. Neben dieser biologisch-analytischen Methode muß auch die chemisch-synthetische zu Wort kommen können, ist sie es doch, die das Interesse als erste auf diese Erscheinungen gelenkt hat. Es ist aber nicht außer acht zu lassen, daß unsere chemischen Methoden viel zu grob für diese Zwecke sind, daß wir gleichsam mit ihnen das biologische Uhrwerk zerschmettern, das von neuem aufzubauen viel schwieriger wäre, als nur

einzelne Teile darin zu ändern. Allerdings ist es notwendig, auch geringe Veränderungen deutlich sichtbare Wirkungen hervorbringen zu lassen, sollen diese klar nachweisbar sein und damit den Wert des biologischen Experimentes erhöhen. Dazu gehört vor allem eine absolute Konstanz aller Versuchsbedingungen bis auf die eine eben zu prüfende, eine Forderung, die nicht leicht zu erfüllen ist. Ihre schwere Durchführbarkeit verlangt ein für diese Zwecke eingerichtetes Laboratorium, in dem der langen Dauer der Versuche, der Infektionsgefahr, der Notwendigkeit der Erhaltung konstanter Temperatur und Konstanz der benützten Nahrungsmittel Rechnung getragen wird, ohne welche Bedingungen die Versuche kein eindeutiges Resultat ergeben können. Als wichtigstes Ergebnis dieser Arbeit möchten wir hervorheben, daß die beobachteten Erscheinungen im großen Maße reproduzierbar sind und zu einfachen Gesetzmäßigkeiten bei verschiedenen, aber gleichernährten Tieren verknüpft werden können. Das Hauptinteresse der Biologie bildet selbstverständlich das Verhalten der Lebensdauer unter der Einwirkung des äußeren Milieus, in diesem Falle repräsentiert durch die bestimmte Ernährung. Nun sehen wir die Lebensdauer als einfache Funktion der Ernährungsweise, wenn die anderen Bedingungen konstant gehalten werden. Bei verschiedenen Ernährungsarten wird aber auch diese Konstante verschieden sein, da die sonstigen Bedingungen absolut gleichzuhalten eine praktische Unmöglichkeit ist und zufällige Nebenwirkungen bei diesen Versuchen immer eine große Rolle spielen werden. Deshalb bleibt es die wichtigste Aufgabe, die am leichtesten eindeutig festzustellenden Grenzfälle zu untersuchen. Auch den zufälligen Wirkungen haben wir schon heute interessante Folgerungen zu verdanken. Die bedeutendsten, hierhergehörigen Fragen sind; Infektion, Kälteschaden, Unterschiede im biologischen Wert gleicher Nahrungsmittel verschiedener Herstellungsart (dieselben, die wir bei der Konstanzhaltung der äußeren Bedingungen schon erwähnt haben). Es ist fast keine Avitaminose bekannt, für die die Infektion als Ursache bestritten oder wenigstens als mitwirkender Faktor nicht in Betracht gezogen worden wäre. Was den Kälteschaden anlangt, konnte man die größere Empfindlichkeit der einseitig ernährten Tiere im Vergleich zu normal gehaltenen beobachten. So können die in der menschlichen Pathologie in Zusammenhang gebrachten Komponenten; Infektion und Kälteschaden, beim einseitig ernährten Tier ihre Wirkungen gleichsinnig verstärken.

Die schwierigste Frage dieser Versuche ist aber die der angewandten Nahrungsmittel. Da wir heute nicht wissen, ob und welche Unterschiede zwischen den verschiedenen Sorten der gleichen Art bestehen, mußte darauf geachtet werden, daß die verwendeten Lebensmittel zumindest immer gleicher Provenienz waren. Denn die bisherigen menschlichen Erfahrungen weisen darauf hin, daß solche Differenzen vorhanden und größer sind als die Wissenschaft angenommen hat. Diese Schwierigkeit wird noch peinlicher dadurch, daß die chemischen Untersuchungsmethoden uns hier vollständig im Stiche lassen und wir darauf angewiesen sind, ihr am ehesten durch die Prüfung möglichst vieler verschiedener Sorten zu begegnen. Es wäre zu hoffen, dadurch die qualitative biologische Wertung verschiedener Arten von Nahrungsmitteln zu regeln. Es erübrigt noch, auf die andern Variablen, z. B. das Tier, einzugehen. In Hofmeisters zusammenfassender Darstellung finden wir einen Hinweis darauf, daß sich die Tiere qualitativen Unzweckmäßigkeiten der Nahrung gegenüber nicht so gleichmäßig verhalten, wie den quantitativen. Daraus ergibt sich die Notwendigkeit, diese Versuche an verschiedenen Tierarten durchzuführen. Wir haben uns aus den einleitend erwähnten Gründen hauptsächlich auf weiße Ratten als Versuchstiere beschränken müssen.

Ganz abgesehen davon, daß nach vielen Anzeichen die Futternormen der Tiere mit Hilfe der instinktiven Auswahl viel zweckmäßiger werden aufgestellt werden können als auf Grund der Eiweiß- und Kalorienlehre, wird der Instinkt der Tiere

als Indikator für die Beurteilung der Nahrungsmittel herangezogen werden können, da die Tiere auf feinere Unterschiede bestimmt empfindlicher zu reagieren imstande sind als der Mensch. Jedoch muß man nach praktischen Erfahrungen auf eine Verschiedenheit in der Empfindlichkeit der Tiere schließen, es sei an das Auffinden der Trüffel mit Hilfe der Schweine erinnert. Die Rücksicht auf eine solche Abhängigkeit und die Zweckmäßigkeit wird bestimmen, welche Tiere zu welchen Zwecken benützt werden sollen.

Jedenfalls erscheint es uns aber vorläufig zweckmäßiger, an einem Tier die Nahrungsmittelwirkungen in möglichst weiten Grenzen zu prüfen. Daß von verschiedenen Tiergattungen verschiedene Reaktionsweisen zu erwarten sind, erhellt aus dem Einfluß, der bei gleicher systematischer Stellung der Versuchstiere, Geschlecht, Alter, ja sogar Art der dem Versuch vorangehenden Fütterung ausüben. Angesichts dieser Verhältnisse drängt sich uns erst recht die Erkenntnis auf, wie einseitig es war, auf Grund der Kalorien- und Eiweißlehre Normen für die menschliche Ernährung aufstellen zu wollen. Wie bei vielen anderen Erscheinungen der Biologie spielt auch in der Ernährung die Gewohnheit eine höchst wichtige Rolle. Wir haben die Tiere bei täglicher Darreichung sich an Bohnen gewöhnen sehen, obwohl sie quoad vitam eine unzumutbare Nahrung darstellen und bei jungen Tieren — das Alter scheint ein ganz scharf umgrenztes zu sein — ein noch prompteres Eintreten der Gewöhnung als bei älteren oder noch jüngeren, die dagegen von äußerster Empfindlichkeit selbst einem Nahrungswechsel gegenüber sind. Da diese Versuche aber noch viel schwieriger durchzuführen sind, so verfügen wir über nicht genügend Material, weshalb wir von einer ausführlicheren Mitteilung vorläufig absehen müssen. Sicherlich kommt aber diesen Beobachtungen nebst dem theoretischen Interesse eine große praktische Bedeutung zu. In all diesen Versuchen hat sich der Instinkt als verlässlicher Wegweiser zur Zweckmäßigkeit bewährt. Nicht so sehr für die Lebenserhaltung, als vielmehr für die sicher zum Vorteil der Tiere arbeitende Entscheidungsfähigkeit innerhalb nahestehender Nahrungsmittel konnte bis zu einem gewissen Grade die Triebssicherheit nachgewiesen werden. Diese Verhältnisse wurden am besten durch das Resultat jenes Auswahlversuches demonstriert, in dem die drei Leguminosen vorgelegt waren. Die Tiere wählen nicht nur dann zwischen den drei Leguminosen, wenn sie sie untereinander vergleichen können, sondern auch, wenn sie nur je eine Art neben einer anderen Nahrung (Mais) vorgelegt erhalten. Damit erscheint der Instinkt als etwas Absolutes nachgewiesen. Wenn wir weiter die Beobachtungen an diesen Versuchen mit den menschlichen Ernährungsgewohnheiten vergleichen, sehen wir einen ziemlich weitgehenden Parallelismus des Geschmacks, sogar auch in bezug auf die vom Menschen verwendeten und aprobeierten Zubereitungsmethoden. Die heute gerne den Luxusgewohnheiten zugerechneten, von altersher geübten Methoden gewinnen vom Standpunkt dieser Versuche aus einen neuen biologischen Wert. Die sie jetzt verdrängenden industriellen Herstellungsverfahren hingegen erscheinen sehr oft als biologisch nicht gut begründet. Was der Mensch durch Jahrtausend langes Erproben als vorteilhaft befunden hat, könnte bei der schnellen Entwicklung der Nahrungsmittelindustrie nicht bestehen bleiben, und den biologischen Wert dieser Eingriffe zu beurteilen, wäre heute die Aufgabe biologischer Versuche.

Aus den früher erwähnten Gründen geht hervor, daß diese Versuche heutzutage für den Menschen an Bedeutung gewonnen haben. Die vom Instinkt geleitete Nahrungswahl ist Einflüssen von außen viel eher zugänglich als z. B. der im Hunger oder anderen Regungen zum Ausdruck kommende Instinktanteil. Die Erklärung für diese Erscheinung ist einfach genug. Da die verschiedenen Nahrungsmittel Reize repräsentieren, auf die Mensch und Tier reagieren, können wir auch

die diesbezüglichen Gesetze für sie in Anwendung bringen. Unter einer bestimmten Grenze — Schwelle — ist ein Reiz nicht imstande, eine Reaktion auszulösen. Hingegen wird durch eine spezifische biologische Mischung der Nahrung die Reizschwelle verschoben. Daraus ergibt sich die ganze Gefahr für die Ernährung des Menschen. Der wiederholte Genuß schlechter Nahrungsmittel läßt den Menschen sich an sie gewöhnen. Niemand wird in Abrede stellen wollen, daß die Treffsicherheit des menschlichen Instinktes (Geruch und Geschmack) im Vergleich zu der des tierischen wesentlich abgenommen hat. Die Erziehung setzt an seine Stelle die Gewohnheit und schwächt ihn dadurch systematisch in seiner Funktion zu Zeiten der Gefahr. Es ist nicht Aufgabe des exakten Laboratoriumversuches, seine Resultate auf menschliche Verhältnisse zu übertragen, um so mehr, als dies nur in größten Umrissen möglich wäre. Vorläufig müssen wir die biologischen Wirkungen qualitativer Unterschiede innerhalb der Nahrungsmittel auf einzelne Funktionen prüfen. Als allgemeinsten Maßstab dafür hat sich die Lebensdauer bewährt, die schon deshalb als Standardwert gewählt wurde, weil sie auch in der Lehre der akzessorischen Nährstoffe in ähnlicher Weise herangezogen wurde. In erster Linie galt es zu erweisen, daß nicht nur eine mangelhaft zusammengesetzte Nahrung Gefahr für das Leben der Tiere mit sich bringt, sondern auch deren aktive (giftige) Wirkung.

Bis jetzt hat den Menschen bloß der Instinkt bei der Nahrungsauswahl relativ gut geführt. Jedoch nicht in absolut zweckmäßiger Weise. Der Instinkt verliert nämlich allmählich an Sicherheit, und so wird es dann Sache weiterer naturwissenschaftlicher Forschung, ihn bei einer Aufgabe, der er allein nicht mehr gewachsen ist, zu stützen. Dadurch kann und wird die menschliche Ernährung in bezug auf ihren Geschmackswert nicht beeinträchtigt. Es handelt sich in solchen Fällen ja oft um Imponderabilien oder — der Menge nach — nur ganz geringe Wirkungen, die industriell viel einfacher und billiger hergestellt werden können, als es den empirischen Methoden bis jetzt möglich war. Alle diese Untersuchungen werden immer durch den einen Leitgedanken, der keineswegs neu, verbunden, daß die Nahrung aktiv den tierischen und menschlichen Organismus verändern, ja innerhalb der Variationsbreite umgestalten kann. Dieser Gedanke wurde schon längst gefaßt in der spekulativ getriebenen Biologie früherer Zeiten, auch ausgesprochen und behandelt. Auf dieser Grundlage aber konnte die exakte Naturforschung nicht weiterbauen, ohne sich erst ihr unentbehrliches Handwerkszeug, Versuche mit einfachen Bedingungen, zu schaffen. Zu diesem Zwecke mußte man von der Variabilität der Lebewesen absehen und bloß die Veränderungen der Nahrung genau verfolgen. Die Stoffwechselgesetze von lebenden Organismen werden durch die Wirkungsgesetze der Nahrungsmittel ergänzt, denn *quanta actio, tanta est reactio*.

Zusammenfassung.

I. Sowohl unsere natürlichen Nahrungsmittel wie unsere Nahrungsmittelstoffe üben eine aktive Wirkung auf den lebenden Organismus aus.

1. Mit Stärke (Kohlenhydraten) ernährt leben Ratten länger als wenn sie

- a) bei gewöhnlicher Temperatur hungern,
- b) bei der Körpertemperatur hungern.

2. Von Stärke allein leben die Ratten zumeist länger als von ausschließlicher Eiweißnahrung.

3. 5—20% Fettzusatz verlängert die Lebensdauer der einseitig mit Stärke ernährten Tiere bedeutend.

4. Zu hoher Fettzusatz (50%) verringert die Lebensdauer der Tiere.
5. Mit Paraffinöl-Stärkegemischen ernährte Tiere leben viel kürzer als wenn sie wirkliche Fette erhalten. 50% Paraffinölzusatz verringert das Leben der Tiere auch im Vergleich zu den hungernden Tieren (aktive lebensverkürzende Wirkung des Paraffinöls).
6. Die Wirkung der Butter unterscheidet sich wesentlich von der der anderen Fette.
7. Die sowohl in ihrer systematischen Ordnung als auch in ihren chemischen Eigenschaften einander so nahestehenden Leguminosen sind in ihrem Lebenserhaltungswert ganz verschieden. Am kürzesten leben Ratten (auch Mäuse) von Bohnen, länger von Erbsen, am längsten von Linsen.
8. Der Preiswert der Leguminosen verhält sich dem Lebenserhaltungswert für Tiere parallel.
9. Die einseitige Leguminosenernährung verursacht charakteristische Veränderungen im tierischen Organismus, Krankheiten.
10. Meistens leben die Männchen von Leguminosen kürzer als die Weibchen.
11. Hitzeinaktivierung verursacht bei Bohnen und Erbsen eine relative Verlängerung, bei Linsen eine relative Verkürzung der Lebensdauer der einseitig ernährten Tiere.
12. Die aktive Leguminosenwirkung steht im Zusammenhang mit ihrer Eiweißqualität. Die Hitzewirkung ist um so größer, je stärker die Eiweißwirkung ist. Die Hitzewirkung kann jedoch nicht auf eine einzige Ursache zurückgeführt werden.

II. Die Tiere treffen die Nahrungsauswahl bis zu einem bestimmten Grade zweckmäßig in bezug auf ihre Lebensdauer.

1. Die Auswahl zwischen Bohnen, Erbsen und Linsen geht bei verschiedenen Ratten in typischer Weise vor sich.
2. Es ist prinzipiell gleichgültig, ob man den Tieren die Hülsenfrüchte als ganze Samen in Mehlform oder als hitzeinaktivierte Mehltreicheit.
3. Die Ratten begnügen sich mit einem einzigen Nahrungsmittel (von 3 vorgesetzten) auch dann nicht, wenn sie von diesem allein am längsten leben würden.
4. Zu Beginn des Versuches, insbesondere aber dann, wenn die Tiere infolge der langdauernden unzweckmäßigen Versuchsernährung in Lebensgefahr geraten sind, wählen sie die Nahrung nach ihrer biologischen Qualität (Lebenserhaltungswert). Die Tiere trachten also, in ihre Ernährung zweckmäßige Abwechslung zu bringen.
5. Insbesondere bei Bohnen ist eine typische Gewöhnung nachweisbar. Jede der untersuchten Leguminosen vermag das Leben eines Tieres auf eine für dieses typische Dauer zu erhalten.

6. Die Tiere nehmen bei gemischter, freigewählter Leguminosenkost im Durchschnitt in jedem Gramm der Nahrung einen konstanten „Lebenswert“ auf, welcher allerdings geringer ist als der durch einseitige Ernährung mit dem besten Nahrungsmittel (Linsen) erreichbare.

7. Die Tiere wählen zwischen Bohnen, Erbsen und Linsen in derselben Weise, wie bei Darreichung eines derselben neben einer Begleitnahrung.

8. Auch in diesem Fall ist die Lebensdauer der Tiere in derselben Reihenfolge abgestuft, wie bei den mit Leguminosen allein ernährten Tieren. Am längsten leben die Tiere von Linsen, am kürzesten von Bohnen.

9. Es läßt sich ein einfacher quantitativer Zusammenhang zwischen Lebenswert der Nahrung bei vollkommen einseitiger Ernährung, sowie aufgenommener Nahrungsmenge und Lebensdauer bei gemischter Kost nachweisen.

10. Die Bohnen verkürzen die Lebensdauer der jungen Tiere beträchtlich, auch wenn sie neben einer anderen Nahrung, Mais, gegeben werden, obwohl die Tiere in diesem Fall minimale Quantitäten nehmen.

III. Im Auswahlversuch der verschiedenen Cerealien ergeben sich ganz charakteristische Unterschiede.

1. Wenn wir Ratten zwischen Gersten-, Roggen- und Weizenmehl wählen lassen, können wir 3 zeitlich aufeinanderfolgende Perioden nach dem am meisten verzehrten Mehle unterscheiden. 1. Gerstenperiode, 2. Roggenperiode, 3. Weizenperiode.

2. In der Abwechslung des Verbrauches der Begleitnahrungsmittel können wir auch ganz gleiche Veränderungen beobachten.

3. Die Tiere gehen von der mehr einseitigen Ernährung der Gerstenperiode zu einer gemischteren der Weizenperiode über.

4. Die Länge der Gersten- und Roggenperiode ist bei den einzelnen Tieren ziemlich gleich. Wir können charakteristische Unterschiede für beide Geschlechter nachweisen.

5. Die Lebensdauer dieser Tiere wird von der Ernährungsweise ganz eindeutig bestimmt.

6. Ganz ähnliche Erscheinungen kamen bei solchen Tieren zur Beobachtung, die mit Körnern und an Stelle von Gerste mit Mais gefüttert wurden.

7. Die Männchen verbrauchen in beiden angeführten Versuchen im allgemeinen weniger Roggen als die Weibchen.

IV. Bis jetzt meistens für unwesentlich gehaltene Eingriffe verändern den biologischen Wert der Nahrung ganz beträchtlich.

1. Durch Hitzeeinaktivierung wird der biologische Wert der Erbsen und Bohnen erhöht.

2. Durch den Mahlprozeß werden die Cerealien wie auch die Leguminosen in ihrem biologischen Wert wesentlich verändert.

3. Insbesondere wird der Wert der Kleie (Weizen) durch das Mahlen verringert.

4. Wir können bei der Ratte eine ebensolche Ablehnung der Kleie beobachten wie beim Menschen. Ähnliche Erscheinungen gelten auch hinsichtlich der Sojabohne.

V. Die Tiere werten verschiedene eiweißhaltige Nahrungsmittel ganz verschieden.

1. In der Wertung der eiweißhaltigen Nahrung spielen physikalische Einflüsse eine sehr bedeutende Rolle (Quellungszustand).

2. Die Ratten werten das Fleisch ebenso wie der Mensch höher wegen seiner wasserlöslichen Extraktivstoffe.

3. Bei Darreichung von Milchpulver neben anderen Nahrungsmitteln verzehren die Tiere Milchpulver in großen Mengen, so daß die Auswahl der Nahrungsmittel nach einer Gesetzmäßigkeit erfolgt, die gleichfalls von ausgesprochener Zweckmäßigkeit ist.

4. Insbesondere in diesem Versuche lassen sich einfache Gesetzmäßigkeiten zwischen Lebensdauer und Nahrungsaufnahme nachweisen.

5. Geringe Zusätze in der Nahrung beeinflussen den Verbrauch sehr bedeutend.

6. Durch geringe Zusätze zu der Nahrung lassen sich die Tiere in der Auswahl irreleiten, sie merken nämlich die Gefahr nicht und reduzieren durch unzweckmäßige Wahl ihre Lebensdauer bis auf ein Zwanzigstel.

7. Die Nahrungsaufnahme ist bei nahestehenden, sich chemisch voneinander nur wenig unterscheidbaren Nahrungsmitteln meistens eine sehr typische ähnliche, bei ähnlichen aber chemisch und biologisch differenten aber eine sehr verschiedene.

8. Durch geringe Veränderung der einzelnen Nahrungsmittel wird die Menge der aufgenommenen Gesamtnahrung stark beeinflußt.

Über die Fermente der Verdauungsorgane der Skorpione.

Von

E. Sarin (Riga).

(Eingegangen am 11. Oktober 1921.)

Die Frage nach den Fermenten, die im Organismus der Skorpione vorkommen, hat schon einige Forscher beschäftigt.

So untersuchte Blanchard¹⁾ die proteolytischen Eigenschaften der herauspräparierten Bauchspeicheldrüse, freilich in recht primitiver Art, indem er die Einwirkung der Drüse auf die Fliege feststellte. Wohl wandte Autor die hierfür angemessene zootomische Methode an und entnahm die Drüsen den eben getöteten Skorpionen; bei diesen Untersuchungen wurde aber die physiologisch-chemische Seite der Frage nicht genügend beachtet, da die Bestimmung der Enzyme sich nur auf das proteolytische Ferment beschränkte, was obendrein, wie schon erwähnt, nach einer unvollkommenen Methode erfolgte. Blanchard²⁾ widmete hierbei den Funktionen der Leber der Arachnoiden, darunter auch der Skorpione, eine besondere Beachtung. Fischer³⁾ und Kobert⁴⁾ benutzten [im Gegensatz zu Kruckenberg⁵⁾] bei ihren Arbeiten nicht die richtige zootomische Methode, da sie zur Gewinnung des die Fermente enthaltenden Auszuges entweder getrocknete Tiere nahmen oder solche, die längere Zeit in Spiritus gelegen hatten. Die Verdauungsorgane wurden nicht herauspräpariert, sondern es wurde der ganze Körper der in Stücke zerschnittenen Skorpione mit physiologischer Kochsalzlösung unter Zusatz von Toluol oder Fluornatrium mindestens 24 Stunden lang bei 38° ausgezogen. Die bei niedrigerer Temperatur gewonnenen Auszüge enthielten ohne Ausnahme wenig Fermente. Die Verwendung physiologischer Kochsalzlösung bei der Herstellung von Auszügen aus Organen lebender Tiere scheint uns nicht zweckentsprechend zu sein, da hierdurch die Zellen eine gewisse Zeitlang am Leben erhalten werden.

Um aber die Fermente möglichst vollständig den Zellen entziehen zu können, müssen diese zerstört werden, was am besten dadurch geschieht, daß man die betreffenden Organe unter Zusatz von Wasser oder Glycerin zerreibt. Vielleicht erklärt das oben Gesagte auch den Umstand, daß in den von uns bei Zimmertemperatur hergestellten Auszügen sich die Fermente gut bestimmen ließen im Gegensatz zu den Angaben von

¹⁾ E. Blanchard, *L'organisation du règne animal*. Paris 1851—59.

²⁾ E. Blanchard, *Cpt. rend. acad. des sc.* **41**. 1855.

³⁾ Fischer, *Über Enzyme wirbelloser Tiere*. Diss. Rostock 1903.

⁴⁾ R. Kobert, *Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol.* **39**. 1913.

⁵⁾ Kruckenberg, *Vergleich physiol. Stud. Experim. Untersuch.* V. Teil. Heidelberg 1881.

Fischer¹⁾ und Kobert²⁾. Daraus geht hervor, daß die von diesen beiden Forschern erhaltenen Resultate kaum den Anspruch erheben können, die von ihnen aufgeworfenen Fragen genügend gelöst zu haben.

Das zootomische Material dieser Untersuchung wurde vom Zoologen E. N. Pawlowsky³⁾, der auch die anatomisch-histologische Untersuchung ausführte, auf folgende Weise hergestellt.

Das Öffnen der chloroformierten Skorpione geschah in einer kleinen Glaswanne, die mit physiologischer Kochsalzlösung (0,75%) angefüllt und deren Boden mit einer Paraffinschicht bedeckt war. Mittels einer feinen Schere und der Pinzette wurde zuerst die Bauchspeicheldrüse entfernt, die auf ein kleines Porzellanschälchen übertragen wurde, auf dessen Boden sich ein wenig ausgeglühter Seesand und einige Tropfen Glycerin befanden. Darauf wurde der ganze mittlere Darm mit der Leber herausgenommen, wobei die letztere von den zwischen ihren Läppchen liegenden Geschlechtsdrüsen befreit und vom Darm getrennt wurde. Die Stücke der zerschnittenen Leber wurden in ein zweites Porzellanschälchen gelegt. Sodann wurde der Darm in zwei Hälften, entsprechend der pars tecta und Pars nuda, geteilt, die in ein drittes und viertes Schälchen kamen. Als alle zur Verfügung stehenden Skorpione geöffnet und ihre Organe auf die eben beschriebene Weise in die Porzellanschälchen verteilt worden waren, wurde jede der vier Portionen mittels eines Glaspistills sorgfältig zerrieben, bis eine gleichmäßige Masse entstand. In jedes Schälchen wurden sodann noch etwa 5 ccm Glycerin getan, der Inhalt rasch vermischt und sofort in kleine Glasflaschen gegossen, die zum Teil mit Glycerin gefüllt waren und entsprechende Aufschriften erhielten. Dem Beispiele Fischers⁴⁾ folgend, wurden als Antisepticum noch einige Tropfen Toluol dem Glycerin zugesetzt. Die Fläschchen wurden mit eingeschliffenen Glasstöpseln verschlossen, mehrmals stark durchgeschüttelt und bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Glycerin verhindert schon an und für sich das Wachstum der Mikroben, und diese Wirkung wird durch Toluol noch erhöht, so daß, wie die Versuche ergaben, die hergestellten Auszüge aus den Verdauungsorganen der Skorpione mehrere Monate haltbar blieben.

Leider hatten wir nur eine sehr geringe Zahl Skorpione zur Verfügung. Die Untersuchungen auf Fermente konnten nur an drei Auszügen ausgeführt werden. Diese wurden folgendermaßen bereitet.

Erster Versuch.

Vier Exemplare von *Buthus doriae* (aus Teheran als Postpaket von N. K. Borkuillon erhalten) wurden präpariert und die Bauchspeicheldrüsen mit 20 ccm

¹⁾ Fischer, l. c.

²⁾ Kobert, l. c.

³⁾ Pawlowsky und Sarin, Beiträge zur Anatomie und Physiologie der Verdauungsorgane der Arthropoda. Russ. physiol. Journ. 1917 (russ.).

⁴⁾ Fischer, l. c.

Glycerin und 8 Tropfen Toluol verrieben. In genau derselben Weise wurde auch mit den Lebern verfahren. Auch die Teile des Darmes wurden einzeln mit je 17,0 ccm Glycerin und ebenfalls 8 Tropfen Toluol verrieben. Die Herstellung des Materials geschah am 25. IV. 1917.

Zweiter Versuch.

Bauchspeicheldrüsen und Leber zweier Exemplare von *Buthus doriae* (Teheran, Bokouillon) wurden mit je 20,0 ccm Glycerin und 8 Tropfen Toluol verrieben. Der Auszug wurde am 24. VIII. 1917 hergestellt.

Dritter Versuch.

Die Bauchspeicheldrüse und die Leber eines *Buthus eupeus* (erhalten aus Dschulek, Kreis Perowsk, Syr-Darja-Gebiet, von P. I. Iwanow) wurden einzeln mit je 10 ccm Glycerin und 8 Tropfen Toluol verrieben. Zeit der Herstellung des Auszuges: 31. X. 1917.

In Anbetracht der äußerst beschränkten Menge an Untersuchungsmaterial und auch des Umstandes, daß einige spezielle Reagentien zur Zeit der Untersuchung im Handel nicht zu erhalten waren, waren wir gezwungen, uns vorläufig nur auf die qualitative Bestimmung folgender Fermente zu beschränken: 1. Katalase, 2. Amylase, 3. Inulinase, 4. Invertase, 5. Lipase, 6. Pepsin, 7. Trypsin, 8. Chymosin.

Katalase.

Die Frage nach dem Vorkommen von Katalase im Organismus der Skorpione interessierte auch Kobert¹⁾. Er benutzte zu seinen Versuchen Skorpione aus Turkestan, die mehr als 5 Jahre in 70 proz. Spiritus gelegen hatten, und erhielt negative Resultate. Allerdings war Koberts Methode der Fermentbestimmung sehr primitiv: er stellte mittels physiologischer Kochsalzlösung einen Auszug aus den Tieren her, fügte ihn zu einer 3 proz. Wasserstoffsuperoxydlösung hinzu und richtete seine Aufmerksamkeit auf die Entwicklung von Gasbläschen. Wir benutzten zur Katalasebestimmung einen hierzu speziell konstruierten Apparat²⁾. Letzterer besteht aus einem runden Arzneifläschchen von etwa 30 ccm Inhalt, einer S-förmig gebogenen Glasröhre und einem in 0,1 ccm geteilten Reagensgläschen.

Gang der Untersuchung: 2 ccm von dem das Ferment enthaltenen Auszuge wurden mit 8 ccm Wasser gemischt und in das oben erwähnte Glasgefäß filtriert. Dann wurden 10 ccm einer 1 proz. Lösung Wasserstoffsuperoxyd hinzugefügt. Das Gefäß wurde mit einem Gummipfropfen, durch den die S-förmige Glasröhre hindurchging, verschlossen. Das Gemisch umgeschüttelt und in einen Wasserbehälter (Glas, Wanne oder dergl.) gestellt, welches soweit angefüllt war, daß das untere Ende der S-förmigen Röhre sich etwa 2 ccm unter dem Wasserspiegel befand. Das gradierte Reagensglas wurde mit Wasser gefüllt und so auf das

¹⁾ Kobert, l. c.

²⁾ E. Sarin, Arb. a. d. Landwirtsch.-Bakteriol. Laborat. d. Ackerbau-minister. Petersburg 1913, S. 11 (russ.).

Ende der S-förmigen Röhre aufgesetzt, daß keine Luftblasen in das Meßrohr gelangen konnten. In ihm sammelte sich der ausgeschiedene Sauerstoff, dessen Volumen bei unseren Versuchen stets nach 24 Stunden gemessen wurde.

Die Resultate waren folgende:

Der untersuchte Glycerinauszug aus der Leber der Skorpione entwickelte aus dem Wasserstoffsuperoxyd beim ersten Versuche 0,3 ccm Sauerstoff, dagegen entstand bei den zwei folgenden Versuchen kein Gas. Auch war keine Sauerstoffentwicklung bei den Auszügen aus der Bauchspeicheldrüse und dem mittleren Darm zu bemerken.

Amylase.

Die Anwesenheit geringer Mengen von Amylase im Organismus der Skorpione wurde von Kruckenberg¹⁾, Fischer²⁾ und Kobert³⁾ festgestellt. Die von uns bei der Amylasebestimmung angewandte Methode bestand in Folgendem:

In je 2 ccm der Glycerinauszüge aus den oben erwähnten Organen wurde im Reagensglas je 8 ccm Wasser und 0,1, 0,3 und 0,5 ccm einer 0,5 proz. Lösung von löslicher Stärke hinzugefügt. Die Mischung wurde durchgeschüttelt und auf eine Stunde in ein 45°-Wasserbad gestellt. Dann wurde das Reagensglas herausgenommen, abgekühlt und zu seinem Inhalt tropfenweise eine wässrige Jod-Jodkaliumlösung zugesetzt.

Bekanntlich geht bei Gegenwart von Amylase die Stärke in Dextrin und Maltose über, und die Flüssigkeit nimmt durch den Jodzusatz nur eine etwas dunklere Färbung an; bei Abwesenheit von Amylase wird dagegen die Stärke nicht verändert und die Flüssigkeit wird blau.

Nur bei einem einzigen der drei nach dieser Methode ausgeführten Versuche wurde die Anwesenheit von Amylase festgestellt, nämlich in dem aus der Leber der Skorpione gewonnenen Auszuge, nach 1 stündiger Einwirkung von 2,0 ccm des Auszuges auf 0,5 ccm Stärkelösung gab Jod eine negative Reaktion auf Stärke. Alle anderen Auszüge dagegen waren wirkungslos: 2 ccm Auszug und 0,01 ccm Stärkelösung gaben selbst nach 2 stündiger Einwirkung bei 45° bei Zusatz von Jodlösung eine dunkelblaue Färbung.

Inulinase.

Außer Stärke und Glykogen findet man im Pflanzenreich als Reservestoff noch ein anderes Kohlenhydrat — das Inulin. Es kommt in vielen Pflanzen vor, hauptsächlich aus der Familie der Korbblütler. Unter dem Einfluß des Ferments Inulinase geht Inulin in Fruktose

¹⁾ Kruckenberg, l. c.

²⁾ Fischer, l. c.

³⁾ Kobert, l. c.

über. Kobert¹⁾ hat auch im Organismus der Skorpione Inulinase festgestellt. Dieser Forscher benutzte, wie schon erwähnt, einen Auszug aus Skorpionen, die in Spiritus aufbewahrt worden waren, und bemerkte, daß eine Inulinlösung, der man etwas von diesem Auszuge hinzugefügt hatte, nach 48stündigem Stehen Fehlingsche Lösung reduzierte.

Zur Bestimmung der Inulinase versetzten wir 10 ccm einer 1 proz. Inulinlösung mit 3 ccm des zu untersuchenden Auszuges; als Konservierungsmittel kamen außerdem 5 Tropfen Toluol hinzu. Doch wurde selbst nach 3tägigem Stehen bei 37° Fehlingsche Lösung durch diese Mischung nicht reduziert. Folglich werden die Angaben von Kobert¹⁾ durch unsere Versuche nicht bestätigt.

Invertase.

Über ihr Vorkommen im Organismus der Skorpione haben wir keine Angaben in der Literatur.

Zur Bestimmung der Invertase wurden 100 ccm einer 5 proz. Saccharoselösung mit 5 ccm der Auszüge aus den erwähnten Organen und mit 1 ccm Toluol versetzt. Das Gemisch wurde 48 Stunden bei 38° gehalten. Nach dieser Zeit wurde die Drehung der Polarisationssebene bestimmt, wobei kein Unterschied zwischen den zu untersuchenden Lösungen und einer Kontrolllösung (Zucker und Glycerin) bemerkt wurde. Es ist also erlaubt, den Schluß zu ziehen, daß im Darm der untersuchten Skorpione Invertase nicht vorhanden war.

Lipase.

Über fettspaltende Fermente bei den Skorpionen finden sich in der Literatur keine Angaben.

Zur Bestimmung der Lipase benutzten wir, in Ermangelung eines künstlichen Fettes, eine 10 proz. Olivenölemulsion. 5 ccm dieser Emulsion wurden in ein geräumiges Reagensglas gegeben, 2 ccm des zu untersuchenden Auszuges und als Konservierungsmittel 3 Tropfen Toluol hinzugefügt. Das Reagensglas kam auf 24 Stunden in einen Thermostat von 37° und dann auf 2 Stunden in ein Wasserbad von 55°. Nach dieser Mischung aus gleichen Raumteilen Alkohol und Äther hinzugefügt und mit $\frac{1}{10}$ -norm. Natronlauge titriert, wobei als Indikator Phenolphthalein benutzt wurde.

Die Resultate waren folgende:

Der Auszug aus der Leber ergab eine Zunahme der Acidität der Emulsion im Vergleich zum Kontrollversuch:

beim I. Versuch	um	0,15 ccm	$\frac{1}{10}$ -Natronlauge
„ II.	„	0,55 ccm	„
„ III.	„	0,20 ccm	„

¹⁾ Kobert, l. c.

Im Auszug aus der Bauchspeicheldrüse wurde nur beim zweiten Versuch eine Erhöhung des Säuregrades um 0,1 ccm $\frac{1}{10}$ -Natronlauge beobachtet, beim ersten und dritten Versuch blieb dagegen die Acidität die gleiche.

Die Auszüge aus dem Darm ergaben keine merkliche Erhöhung der Acidität.

Pepsin.

In der Literatur findet man nur eine Angabe von Blanchard¹⁾ über das Vorkommen eines bei saurer Reaktion wirkenden proteolytischen Ferments in der Bauchspeicheldrüse der Skorpione.

Zum Nachweis des Pepsins benutzten wir eine 10proz. Lösung von alkalischer Gelatine, die mit Salzsäure bis zur deutlich sauren Reaktion versetzt wurde. In jedes Reagensglas mit Gelatine wurden je 2—3 Tropfen der zu prüfenden Glycerinauszüge zugesetzt. Der Versuch verlief bei Zimmertemperatur.

In den Röhren, die mit den Auszügen aus der Leber und der Bauchspeicheldrüse versetzt waren, bemerkte man nach drei Tagen, daß sich die Gelatine zu verflüssigen begann, wobei die Verflüssigung bei dem Leberauszug weit intensiver vor sich ging als bei dem Auszug aus der Bauchspeicheldrüse.

Die Röhren dagegen, die mit den Auszügen aus dem Darm versetzt waren, zeigten auch nach einem Monat keine Verflüssigung der Gelatine.

Auf Grund des eben Angeführten kann man also die Anwesenheit von Pepsin in der Leber und Bauchspeicheldrüse der Skorpione als bewiesen betrachten.

Trypsin.

Auf die Anwesenheit eines tryptischen Ferments im Organismus der Skorpione weisen Kruckenberg und Fischer²⁾ hin.

Zum Nachweis des Trypsins benutzten wir zwei Methoden, nämlich:

1. neutrale 10proz. Gelatinelösung, und außerdem eine solche derselben Konzentration, jedoch mit 1% Soda versetzt.

2. die von Gross, Fuld, Michaelis³⁾ angegebene Methode, die folgendermaßen ausgeführt wurde:

0,1 g Casein wurden unter gelinder Erwärmung in wenig Wasser bei gleichzeitigem Zusatz von 10 Tropfen 10proz. Sodalösung aufgelöst, mit Wasser auf 200 ccm verdünnt und filtriert. Zu je 6 ccm des blanken Filtrats wurden je 2 ccm der zu untersuchenden Glycerinauszüge zugesetzt, und die Reagensgläschen auf 1 Stunde in ein Wasserbad von

¹⁾ Schimkewitz, Zeitschr. f. wiss. Zool. 1906, S. 81.

²⁾ Fischer, l. c.

³⁾ Abderhalden, Handbuch der biochemischen Arbeitsmethoden 3, 19. 1910.

37—40° gestellt. Nach dieser Zeit wurde die Flüssigkeit, falls sie nicht genügend klar war, filtriert, und dann tropfenweise eine 0,25 proz. Essigsäure zugesetzt.

Bekanntlich wird bei Anwesenheit von Trypsin das Caseinmolekül gespalten, wobei Verbindungen entstehen, die von Essigsäure nicht gefällt werden, während unverändertes Casein durch Säure niedergeschlagen wird.

Die untersuchten Auszüge aus der Leber der Skorpione bewirkten in allen drei ausgeführten Versuchen die Verflüssigung sowohl der neutralen, als auch der mit Soda versetzten Gelatine und gaben bei der oben beschriebenen Caseinprobe eine Reaktion in positivem Sinne.

Die Auszüge aus der Bauchspeicheldrüse verflüssigten auch sowohl die neutrale, als auch die alkalische Gelatine, jedoch in geringerem Grade, als die aus der Leber, während die Caseinprobe in diesem Falle negativ ausfiel.

Die Erklärung liegt scheinbar darin, daß die Gelatine, wie die Versuche von Fermi¹⁾ gezeigt haben, ein empfindlicheres Reagens auf Trypsin ist, als das Casein.

Die aus dem Darm gewonnenen Auszüge verflüssigten weder die Gelatine, noch gaben sie mit Casein ein positives Resultat.

Chymosin.

Über das Vorkommen von Chymosin in den Skorpionen finden sich in der Literatur keinerlei Angaben.

Zur Bestimmung dieses Ferments wurden 10 ccm Milch mit 90 ccm Wasser verdünnt, und 1,0 ccm einer 10 proz. Chlorcalciumlösung hinzugefügt. 5 ccm dieses Gemisches wurden im Reagensglas mit 20 Tropfen des Glycerinauszuges versetzt. Darauf kam die Mischung in ein Wasserbad von 40°.

Dabei wurde in allen drei angestellten Versuchen bemerkt, daß in den Gläschen, die den Auszug aus der Leber enthielten, das Casein der Milch im 10—15 Minuten geronnen war.

Im zweiten Versuch, der mit dem Auszuge aus der Bauchspeicheldrüse angestellt wurde, gerann das Casein nach 50 Minuten, beim ersten und dritten Versuch dagegen trat auch nach 4stündiger Erwärmung bei 40° keine Koagulation ein. Nach dieser Zeit wurde der Versuch in beiden Fällen abgebrochen. Auch in den Proben, die den Auszug aus dem Darm enthielten, trat nach 4stündiger Erwärmung bei 40° keine Fällung ein.

Die Verteilung der Fermente auf die untersuchten Organe ist in folgender Tabelle übersichtlich zusammengestellt. Das Zeichen + bedeutet Anwesenheit, das Zeichen — Abwesenheit des Ferments.

¹⁾ Fermi, Vorlesungen über Bakterienenzyme. Jena 1907.

Bezeichnung der Fermente	Bauchspeicheldrüse			Leber			Mittel-Darm	
	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	1. Versuch	2. Versuch	3. Versuch	pars tectae	pars nuda
Katalase	—	—	—	—	—	—	—	—
Amylase	—	—	—	—	—	—	—	—
Inulinase	—	—	—	—	—	—	—	—
Invertase	—	—	—	—	—	—	—	—
Lipase	—	—	—	—	—	—	—	—
Pepsin	—	—	—	—	—	—	—	—
Trypsin	—	—	—	—	—	—	—	—
Chymosin	—	—	—	—	—	—	—	—

Indem wir eine solche Verteilung der Fermente auf die verschiedenen Verdauungsorgane feststellen, erlauben wir uns, über die Frage nach der Analogie der Bauchspeicheldrüse und der Leber (resp. ihrer physiologischen Bedeutung) einige Schlüsse zu ziehen.

Zweifellos unterscheidet sich die Leber von der Bauchspeicheldrüse durch ihre Fähigkeit, Amylase zu bilden, außerdem finden wir in ihr auch Katalase. Also ist die Bauchspeicheldrüse ärmer an den genannten Fermenten als die Leber. Beim Vergleich der Analysenresultate fällt es auf, daß Lipase und Chymosin in der Bauchspeicheldrüse nur im zweiten Versuch festgestellt wurden, im ersten und dritten dagegen fehlten; außerdem wirkten auch die übrigen Fermente beim mittleren Versuch weit energischer als beim ersten und dritten. Das ist um so bemerkenswerter, als beim zweiten Versuch der Auszug aus den Bauchspeicheldrüsen (die Drüse von zwei Skorpionen auf 20 ccm Glycerin) schwächer war als beim ersten (vier Drüsen auf 20 ccm Glycerin). Diese Verschiedenheit läßt sich wahrscheinlich dadurch erklären, daß sich die zu den Versuchen benutzten Skorpione in verschiedenen Stadien der Verdauung und Assimilation befanden. Auch darf nicht vergessen werden, daß die Tiere in verschiedenen Jahreszeiten (vom April bis zum August) eintrafen.

Beim Vergleich der Auszüge aus den verschiedenen Organen finden wir ferner, daß die Auszüge aus dem Mitteldarm gar keine aus der Zahl der untersuchten Fermente enthielten.

Jedenfalls ist die Annahme Rawlowskys (l. c.) berechtigt, daß die Bauchspeicheldrüse und die Leber einander nicht analog sind, und daß die der Verdauung dienenden Drüsen der Skorpione als besondere Organe betrachtet werden können, nicht aber als blinde Auswüchse des Mitteldarmes, wie das Bernhard¹⁾ und Jordan²⁾ in bezug auf die Leber der Arthropoda und Mollusca behauptet haben.

¹⁾ Bernhard, Journ. Royl. Micr. Soc. 1893, S. 40.

²⁾ Jordan, Zool. Jahrb., Abt. f. Zool. u. Physiol., Supplem. 13. 1912.

Studien über die Bildung der bakteriellen Toxine.

I. Mitteilung.

Staphylolysin.

Von

L. E. Walbum.

(Aus dem Staatens Seruminstitut, Kopenhagen.)

(Eingegangen am 17. Januar 1922.)

(Mit 22 Abbildungen im Text.)

Inhaltsverzeichnis.

Messung der Wasserstoffionen-Konzentration in Pepton-Bouillon und Bakterienkulturen nebst Änderungen in dieser mit der Temperatur (S. 369).

A. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, Temperatur und Zeit für das Wachstum, nebst Bildung und Haltbarkeit des Lysins (S. 375).

1. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, Temperatur und Zeit für das Wachstum der Staphylokokken (S. 375).

2. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, Temperatur und Zeit für die Staphylolysinbildung (S. 379).

a) Änderungen des p_H während des Wachstums (S. 384).

b) Bildung des Lysins (S. 385).

c) Abschwächung des Lysins bei verschiedenem p_H und Temperatur (S. 389).

d) Erklärung der Lysinkurven (S. 394).

e) Läßt das p_H sich während des Wachstums konstant halten? (S. 400).

B. Die Bedeutung der Zusammensetzung des Nährbodens für Wachstum und Lysinbildung (S. 403).

1. Wachstum und Lysinbildung in einfachen Nährböden (S. 405).

2. Wachstum und Lysinbildung in Bouillon (S. 411).

a) Die Bedeutung der Fleisch-Konzentration (S. 411).

b) Die Bedeutung der Pepton-Konzentration (S. 413).

c) Die Bedeutung der Natriumchlorid-Konzentration (S. 414).

d) Die Bedeutung des Sterilisierens (S. 415).

e) Die Bedeutung verschiedener Metallsalze (Katalysatoren) (S. 420).

C. Verschiedene andere Änderungen in der Bouillon während des Wachstums (S. 431).

Trotzdem schon 25–30 Jahre verstrichen sind, seitdem Toxinuntersuchungen die Bakteriologen ernstlich zu interessieren anfangen,

und trotz der umfassenden Arbeit, die auf diesem Gebiete der Mikrobiologie ausgeführt worden ist, steht die Tatsache fest, daß wir noch so gut wie nichts von der tieferen Natur der Prozesse wissen, welche in den Bakterienkulturen während der Toxinbildung sich abspielen; wir können jetzt mit keiner wesentlich größeren Sicherheit als im Anfange der Toxinforschung über den Verlauf der Toxinbildung etwas voraussagen; es beruht zum großen Teil auf dem Einfluß noch unbekannter Faktoren, ob ein Toxin sich genügend stark erweisen wird.

Ein einzelnes Toxin, bei welchem die Darstellungsschwierigkeiten besonders fühlbar sind, ist das *Diphtherietoxin*, und die Verhältnisse liegen noch immer so, daß es einem Institut während langen Perioden unmöglich ist, dieses Toxin in der notwendigen Stärke darzustellen, während es gleichzeitig in anderen Laboratorien sich ohne Schwierigkeiten tun läßt. Diese Verhältnisse werden sich jetzt vielleicht günstiger gestalten, da man in den letzten Jahren die Bedeutung eines der Faktoren kennen gelernt hat, der eine hervortretende Rolle spielt, nämlich die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens, und gleichzeitig eine einfache und genügend genaue Methode zu ihrer Messung gefunden hat. Aber selbst bei sorgfältiger Berücksichtigung dieser Verhältnisse kann man keineswegs einem sicheren Resultat entgegensetzen, denn augenscheinlich sind noch mehrere andere bisher unbekannte Faktoren für die Bildung dieser Gifte von Bedeutung. Es wird somit sowohl in theoretischer als in praktischer Beziehung von großem Nutzen sein, unsere Kenntnisse betreffs der Bildung dieser Toxine zu erweitern.

Die Bakteriengifte, an welche sich das größte praktische Interesse knüpft, sind in der Regel nur an lebenden Tieren meßbar, wodurch der Ausdehnung solcher Versuche eine natürliche Grenze gesetzt wird. Um in dieser Beziehung freie Hand zu haben, dürfte es zweckmäßig sein, die einleitenden Versuche mit solchen Bakteriengiften zu unternehmen, die auf andere Weise meßbar sind. Wenn nun auch sicherlich die Bildungsbedingungen der verschiedenen Toxine nicht in jeder Beziehung dieselben sind, darf man doch annehmen, daß durch eine systematische Untersuchung dieser Verhältnisse bei einem einzelnen Toxin mehrere allgemeingültige Aufschlüsse über die Bedeutung der verschiedenen Bedingungen für die Toxinbildung zu erhalten wären.

In der vorliegenden Arbeit werden die Resultate meiner Untersuchungen über die Bildung des *Staphylolysin*s mitgeteilt.

Erstens habe ich die Bedeutung der in allen biologischen Prozessen so stark eingreifenden Faktoren: Temperatur, Zeit und Wasserstoffionenkonzentration untersucht, und zwar einerseits die Bedeutung dieser für das Wachstum der Staphylokokken, andererseits ihren Einfluß auf die Lysinbildung und auf die Erhaltung des in den Kulturen gebildeten Lysins. Diese Untersuchungen setzten die Kenntnis der

Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration während des Wachstums und der Abschwächung des Lysins bei wechselnden Wasserstoffionenkonzentrationen und verschiedenen Temperaturen voraus. Diese Zusammenhänge mußten also zuerst aufgeklärt werden.

Ferner habe ich die Bedeutung der Zusammensetzung des Nährbodens sowohl für Wachstum als für Lysinbildung untersucht. Von der Beobachtung ausgehend, daß Magnesiumsalze gegenüber dem Staphylolysin ausgeprägt aktivierende Eigenschaften besitzen, habe ich eine Versuchsreihe über den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Lysinbildung ausgeführt.

Bevor ich zu den Staphylolysinuntersuchungen übergehe, werde ich eine kurzgefaßte Beschreibung der Messungen der Wasserstoffionenkonzentration in Nährböden und Kulturen geben, und die Versuche beschreiben, welche ich betreffs dieser Verhältnisse vornehmen mußte.

Messung der Wasserstoffionen-Konzentration in Pepton-Bouillon und Bakterienkulturen nebst Änderungen in dieser mit der Temperatur.

Zur Messung der Wasserstoffionenkonzentration, auch in „biologischen“ Flüssigkeiten, stehen jetzt bekanntlich sehr genaue Methoden zur Verfügung, deren Ausarbeitung wir *S. P. L. Sørensen*¹⁾ verdanken. Mittels dieser ist es gelungen, die große Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für den Verlauf verschiedener biologischer Prozesse (z. B. vieler Enzymwirkungen) eingehend klar zu legen, und sie ist, wie von *S. P. L. Sørensen* hervorgehoben, ein Faktor, der für den Verlauf dieser Prozesse, von derselben fundamentalen Bedeutung ist wie die Temperatur. Überall wo die Acidität einer Flüssigkeit angegeben wird, dürfte dies durch Angabe ihrer Wasserstoffionenkonzentration (p_H) geschehen (und keineswegs durch eine Titrationszahl), denn nur die erstere gibt über den wahren Aciditätsgrad sichere Aufschlüsse.

Bei den elektrometrischen Messungen der Wasserstoffionenkonzentration habe ich die von *S. P. L. Sørensen* ausgearbeitete und beschriebene Methode angewandt. Es war aber in sehr vielen Fällen — teils in der Bouillon selbst, teils in den Kulturen — ganz unmöglich, konstante und sichere Meßresultate zu erhalten; entweder stieg und fiel die gemessene Spannung oder sie stieg allmählich, ohne innerhalb vieler Stunden konstant zu werden. Indessen zeigten sich diese Schwierigkeiten nur in den alkalischen Mischungen oder um den Neutralpunkt; in Mischungen mit $p_H = \text{ca. } 6,00$ oder in sauereren Mischungen gelang es schnell, konstante Resultate zu erhalten, die, wie untenstehende Beispiele zeigen, eine vorzügliche Übereinstimmung mit den colorimetrischen Bestimmungen erwiesen.

			elektrom.	colorimetr.
Bouill. A	900 Bouill.	2 $\frac{n}{l}$ -Milchsäure + 98 Wasser	p_H 5,983	6,05 Bromkresolpurp.
	900 „	10 „ „ 98 „ „	5,408	5,40 Methylrot
	900 „	25 „ „ 98 „ „	4,650	4,65 „
Bouill. P.			5,614	5,62 Bromkresolpurp.
	dieselben Mischungsverhältnisse		4,783	4,83 Methylrot
			3,968	3,95 Methylorange.

Daß die alkalischen Mischungen selten elektrometrisch meßbar sind, dürfte auf deren Gehalt an Ammoniak und flüchtigen Schwefelverbindungen beruhen, Verbindungen, die durch die Einwirkung der Hydroxylionen auf die Bouillonbestandteile während der Erwärmung (im Autoklaven bei 115–120°) oder während des Wachstums der Bakterien gebildet werden. Die Richtigkeit dieser Vermutung zeigt der untenstehende Versuch.

Alkalische Peptonbouillon (20 Minuten bei 120° sterilisiert) p_H ca. 9.3 wird 3 Tage mittels Durchsaugen von Luft gelüftet; ein Teil des Ammoniak wird als Magnesiumammoniumphosphat ausgeschieden. In der durchgesaugten Luft können mittels *Neslers* Reagens nur Spuren von Ammoniak nachgewiesen werden; von der so durchlüfteten Bouillon werden folgende Mischungen hergestellt, deren p_H sowohl elektrometrisch als colorimetrisch gemessen werden.

	elektrom.	colorimetrisch.
1) 100 Bouillon	9,206	9,36 Phenolphthalein
2) 100 „ + 0,8 $\frac{n}{l}$ -HCl	8,604	8,68 Phenolphthalein
3) 100 „ + 1,6 $\frac{n}{l}$ -HCl	8,028	7,90 Cresolrot
4) 100 „ + 2,4 $\frac{n}{l}$ -HCl	7,162	6,98 Bromthymolblau.

Die Übereinstimmung ist gut, denn der Unterschied ist in keinem Falle größer als 0,2 im Wasserstoffionenexponenten.

Ich habe mich durch Sterilisieren der Bouillon bei ihrer natürlichen Acidität (p_H = ca. 6,0–6,5) und durch Zusatz von verschiedenen Natronmengen nach dem Abkühlen davon überzeugt, daß die messungsstörenden Körper u. a. während der Erwärmung der *alkalischen* Bouillonmischungen entstehen; in den so bereiteten alkalischen Mischungen zeigen die elektrometrischen Messungen, welche ziemlich schnell konstant wurden, mit den colorimetrischen gute Übereinstimmung. Bei einigen Versuchen über die Bildung des Diphtherietoxins wurde die Bouillon *nach* dem Sterilisieren mittels sterilisierter calcinierter Soda alkalisiert; in keinem dieser Bouillonpräparate hat die elektrometrische Bestimmung Schwierigkeiten bereitet.

Nachdem sich wiederholt eine so gute Übereinstimmung unter beiden Messungsmethoden gezeigt hatte, wenn sich die elektrometrische überhaupt ausführen ließen, habe ich in fast sämtlichen Untersuchungsreihen die colorimetrische Messung angewendet; in den umfangreichen

Reihen war die Zahl der Proben, deren Wasserstoffionenkonzentration innerhalb kurzer Zeit gemessen werden sollte, oft so groß, daß es überhaupt unmöglich war, elektrometrisch zu messen, wenn die geplanten Untersuchungen durchgeführt werden sollten.

Für sämtliche Messungen wurden die Standardlösungen von *S. P. L. Sørensen* und untenstehende Indicatoren verwendet: Alizarin (10,1–12,1), Thymolphthalein (9,3–10,5), Phenolphthalein (8,3–10,0), Cresolrot (7,2–8,8), Phenolrot (6,8–8,4), Bromthymolblau (6,0–7,6), Bromkresolpurpur (5,2–6,8), Methylrot (4,4–6,0) und Methylorange (3,1–4,4).

Um die Standardlösungen der Farbe der Bouillon anzugleichen, habe ich mit ausgezeichnetem Resultat *Caramel* mit ein wenig *Curcumin* und mitunter ein wenig *Helianthin* verwendet; als Caramel wurde die käufliche Zuckercouleur in passender Verdünnung benutzt; mittels der genannten Farbstoffe läßt sich die Bouillonfarbe in der Regel schlagend nachahmen. In den meisten Fällen habe ich jedoch die Farbe und Trübung der Bouillon durch colorimetrische Messung nach *Walpole* (*Dernby*, *Michaelis*) eliminiert.

Nachdem diese Untersuchungen fast beendet waren, hat *E. Biilmann*²⁾ eine neue Methode zur elektrometrischen Messung der Wasserstoffionenkonzentration in Flüssigkeiten veröffentlicht; anstatt einer Wasserstoffelektrode verwendet *Biilmann* eine Chinhydronelektrode [blankes Platin in einer Lösung von Chinhydrin (Chinon und Hydrochinon)]. Die Methode gibt schnell konstante Resultate und arbeitet in den veröffentlichten Fällen (Lösungen von bekannter chemischer Natur) mit großer Genauigkeit. Diese neue Elektrode läßt sich leider nur in sauren Lösungen verwenden (bis $p_{\text{H}} = \text{ca. } 6,8$). Da die Toxinbildung vorzugsweise in alkalischem Medium vor sich geht, wird diese übrigens vorzügliche Methode kaum bei Untersuchungen dieser Art den Mängeln der gewöhnlichen Methodik abhelfen können. Dagegen wird die Methode unzweifelhaft für die Erforschung der in sauren Lösungen sich abspielenden biologischen Prozesse von bedeutendem Interesse sein.

Da die Wasserstoffionenkonzentration einer Lösung sich wohl in den meisten Fällen mit der Temperatur ändert und ich bei meinen Versuchen, wo der Einfluß der Temperatur oft der Gegenstand der Untersuchung war, genaue Aufschlüsse über die Wasserstoffionenkonzentration bei den betreffenden Untersuchungstemperaturen haben mußte, ließen sich die verwendeten Standardlösungen (*S. P. L. Sørensen*) nicht ohne weiteres für die colorimetrischen Messungen verwenden, weil ihre Wasserstoffionenkonzentration nur bei 18° gemessen worden waren. Ich habe deshalb die Abhängigkeit ihrer Wasserstoffionenkonzentrationen von der Temperatur untersucht³⁾ und gefunden, daß

sie in Phosphatmischungen*), Glycin-HCl und Citrat-HCl zwischen 10–70° unverändert sind (außerhalb dieser Grenzen wurden keine Messungen unternommen). Die Wasserstoffionenkonzentrationen in Glycin-NaOH, Borat-HCl und Borat-NaOH wurden mit steigender Temperatur größer (d. h. p_H wurde kleiner), während Citrat-NaOH das umgekehrte Verhalten zeigte; bei den drei Mischungsarten, wo p_H mit steigender Temperatur fällt, ist die Änderung mit der Temperatur für die am meisten alkalischen Mischungen am größten, und nimmt mit abnehmender Alkalinität allmählich ab. Die Änderung mit der Temperatur läßt sich in sämtlichen Fällen durch eine gerade Linie darstellen.

Mittels dieser in einem Koordinatensystem eingeführten Meßresultate lassen sich die Wasserstoffionenkonzentrationen der verschiedenen Flüssigkeiten bei Temperaturen zwischen 10 und 70° messen. Die Messungen bei den verschiedenen Temperaturen wurden in einem mit Glaswänden versehenen Wasserbade vorgenommen, in dem sich ein schräges Gestell mit Milchglasboden zum Anbringen der Reagensgläser befand. Das Bad wurde mit Gasflammen erwärmt und war wie gewöhnlich mit einem Toluol-Quecksilberregulator versehen.

In der gewöhnlich verwendeten Peptonbouillon (50% Fleisch, 1% Pepton und 0,5% NaCl) habe ich bei den Temperaturen 10, 20, 35 und 50° einige colorimetrische Messungen der Wasserstoffionenkonzentration unternommen. Um zu untersuchen, ob ihre Temperaturschwankungen bei den zu verschiedenen Zeiten dargestellten Präparaten von gleicher Größe waren, habe ich für die drei Versuche Bouillonpräparate verwendet, die zu verschiedenen Zeiten und aus verschiedenem Material bereitet worden waren. Die Bouillon vom April 1920 wurde für die Versuche über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration, der Temperatur und der Zeit für das Wachstum der Staphylokokken verwendet, die Bouillon vom August 1920 bei entsprechenden Versuchen mit Diphtheriebacillen, während das Septemberpräparat aus 1920 bei Versuchen anderer Art zur Verwendung kam.

Aus jeder Bouillon wurden durch Zusatz von Milchsäure oder Natronhydrat 5–6 Mischungen mit wechselnder Wasserstoffionenkonzentrationen von $p_H = \text{ca. } 4$ bis $p_H = \text{ca. } 11$ hergestellt.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß p_H mit steigender Temperatur kleiner wird, daß die Änderung für die am meisten alkalischen Mischungen am größten ist, und mit der Alkalinität allmählich abnimmt.

*) Professor Leonor Michaelis hat mir gütigst mitgeteilt, daß nach seinen p_H -Untersuchungen das p_H der Phosphatmischungen mit steigender Temperatur etwas ansteigt.

Diese Messungen haben die untenstehenden Resultate ergeben (Tabelle I).

Tabelle I.

Bouillon — April 1920				Bouillon — August 1920				Bouillon — September 1920			
10°	20°	35°	50°	10°	20°	35°	50°	10°	20°	35°	50°
3,69	3,67	3,64	3,60	4,36	4,31	4,28	4,25	4,05	3,95	3,95	3,95
4,99	4,97	4,88	4,83	6,21	6,14	6,04	5,94	5,50	5,45	5,40	5,32
6,64	6,56	6,46	6,34	7,59	7,52	7,38	7,21	7,00	6,95	6,80	6,68
9,56	9,39	9,11	8,84	9,06	8,90	8,67	8,46	8,65	8,50	8,30	8,12
10,12	9,92	9,60	9,26	10,21	10,00	9,70	9,32	9,90	9,65	9,40	9,11
—	—	—	—	11,29	10,92	10,42	9,90	10,88	10,60	10,20	9,77

Es scheint somit, daß die Bedeutung der Temperatur hier von ähnlicher Art ist wie für die Standardmischungen Glycin-NaOH und Borat-NaOH (siehe oben).

Werden sämtliche Resultate in einer Tabelle zusammengestellt (Tabelle II) und nach der Größe des p_H geordnet, so ergibt sich, daß der Unterschied, der von einer Erwärmung um 1° hervorgerufen wird, eine langsam ansteigende Zahlenreihe bildet (siehe letzte Kolonne in der Tabelle).

Tabelle II.

p_H bei 10°	p_H bei 50°	Differenz in p_H	Änderung in p_H für 1°
3,69	3,61	0,08	0,002
4,05	3,95	0,10	0,0025
4,36	4,25	0,11	0,0028
4,99	4,83	0,16	0,004
5,50	5,32	0,18	0,0045
6,21	5,94	0,27	0,0068
6,64	6,34	0,30	0,0075
7,00	6,68	0,32	0,008
7,59	7,21	0,38	0,0095
8,65	8,12	0,53	0,013
9,06	8,46	0,60	0,015
9,56	8,84	0,72	0,018
9,90	9,11	0,79	0,0195
10,21	9,32	0,89	0,0223
10,88	9,77	1,11	0,028
11,29	9,90	1,39	0,033

Zeichnen wir diese Werte, die die Änderung des p_H für 1° angeben, als Ordinaten, die entsprechenden (in p_H ausgedrückten) Wasserstoffionenkonzentrationen in den bei 18° untersuchten Flüssigkeiten als Abszissen in ein Koordinatensystem ein, so erhält man eine Kurve (Abb. 1), welche zeigt, daß die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration mit der Temperatur für die voneinander ganz unabhängig zu verschiedenen Zeiten hergestellten Pepton-Bouillonpräparate dieselbe ist; dies ist von Wichtigkeit, denn *diese Kurve gestattet — wenn die*

Wasserstoffionenkonzentration einer Bouillon bei 18° bekannt ist — die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration dieser Bouillon in (p_H) für jeden Grad abzulesen, um den sie über 18° erwärmt oder darunter abgekühlt wird.

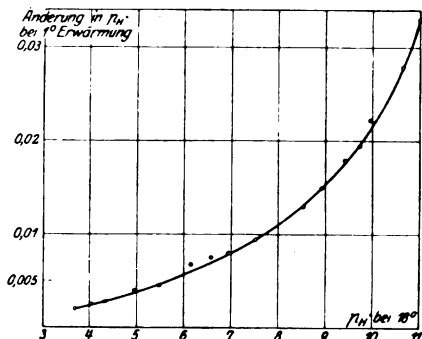


Abb. 1. Änderung des p_H mit der Temperatur in Pepton-Bouillon, Kulturen und Kulturfiltraten.

Ferner habe ich entsprechende Versuche mit Bakterienkulturen in Peptonbouillon (Staphylokokken und Diphtheriebacillen) auf verschiedenen Stufen ihrer Entwicklung und in deren Filtraten (Toxine) ausgeführt, und in sämtlichen Fällen gefunden, daß die Änderung des p_H mit der Temperatur dieselbe wie für die unbehandelte Bouillon war.

Das Staphylolysin.

Die erste und absolute Bedingung für die Bildung des Staphylolysin ist selbstverständlich die, daß die Staphylokokken sich im betreffenden Nährboden entwickeln können; es müssen somit die für die Ernährung nötigen Grundstoffe in assimilierbarer Form darin vorhanden sein. Die Reaktion des Nährbodens, d. h. ihre Wasserstoffionenkonzentration ebenso wie die Bruttemperatur müssen ferner eine passende Größe haben; aber trotzdem ist es keineswegs sicher, daß eine nennenswerte Lysinbildung stattfinden wird; auch andere und zwar zum großen Teil noch unbekannte Faktoren, üben einen beträchtlichen Einfluß auf die Toxinbildung der Mikroben aus.

Drei Faktoren, die für alle biologischen Prozesse von großer Bedeutung sind, kennt man bereits: die Wasserstoffionenkonzentration, die Temperatur und die Zeit; daß sie auch für die Toxinbildung eine nicht geringe Rolle spielen, ist bekannt, aber in keinem Falle der Gegenstand einer rationellen Untersuchung gewesen.

Im folgenden habe ich u. a. die Bedeutung dieser drei Faktoren für das Wachstum der Staphylokokken untersucht, ferner die Bedeutung der genannten Faktoren für die Lysinbildung und für die Erhaltung des in den Kulturen während des Wachstums gebildeten Hämolyins.

In einem späteren Kapitel wird die Bedeutung der quantitativen Zusammensetzung des Nährbodens betreffs der wichtigsten Inhaltsstoffe erwähnt, und schließlich eine Untersuchungsreihe über verschiedene Änderungen in der Zusammensetzung des Nährbodens während des Wachstums der Staphylokokken und besonders über die Umbildung des organisch gebundenen Phosphors in anorganisch ge-

bundenen mitgeteilt. Für sämtliche Versuche wurde derselbe Staphylokokkenstamm verwendet (Staph. pyog. aur. aus einem menschlichen Absceß).

A. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, der Temperatur und der Zeit für das Wachstum, nebst Bildung und Haltbarkeit des Lysins.

Alle früheren Untersuchungen über diese Fragen leiden an dem Mangel, daß eine exakte Angabe des Aciditäts- oder Alkalesensgrades der verwendeten Nährböden unmöglich war; es ist der Gehalt freier Wasserstoffionen, der allein die Reaktion des Nährbodens bedingt und dieser Gehalt ist nicht nur von der zugefügten Säuren- oder Basenmengen abhängig, sondern auch hochgradig von den anderen in der Lösung vorhandenen Körper. Indessen sind die früheren Untersuchungen in dieser Beziehung bei weitem nicht wertlos. So zeigte *Deeleman*⁴⁾ durch seine Versuche, daß das Wachstumsoptimum der Staphylokokken bei einer schwach alkalischen Reaktion liegt; zu 100 cem lakmusneutraler Gelatine werden 0,78 cem normale Sodalösung oder 0,68 cem Normalnatron gesetzt. *v. Lingelsheim*⁵⁾ gibt als Optimum 5—15 cem Normallauge per Liter Nährboden an; mit 50 cem findet noch ein üppiges Wachstum statt, bei 250—350 cem wachsen sie aber nicht. Die Staphylokokken sind gegenüber Säuren empfindlicher und wachsen bei einem Zusatz von 30 cem Normalsäure per Liter nicht mehr. Nach *Lübbert*⁶⁾ kann der Sodainhalt des Nährbodens bis 1,6% steigen und erst bei 1,78% hört das Wachstum auf. Mit Phosphorsäure kann man bis auf 0,15% steigen; bei Gegenwart von 0,1% Salpetersäure, 0,11% Essigsäure und 0,23% Milchsäure wird das Wachstum gehemmt. Nach *Menge-Krönig*⁷⁾ wachsen Staphylokokken, obwohl kümmerlich, in einer 0,4proz. Milchsäurebouillon und erst bei 0,5% stellt sich Wachstumshemmung ein. *Neisser* und *Wechsberg*⁸⁾, welche zuerst das Verhalten des Staphylokokken genauer untersuchten, fanden, daß $\frac{1}{3}$ der zur vollständigen Neutralisation gegenüber Phenolphthalein erforderlichen Alkalimenge die am besten geeignete Reaktion ergab.

Es geht aus diesen Untersuchungen hervor, daß eine schwach alkalische Reaktion zwischen den Umschlagpunkten von Lackmus und Phenolphthalein (d. h. p_H ca. 7,5) für die Entwicklung der Staphylokokken anscheinend am besten ist.

1. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, der Temperatur und Zeit für das Wachstum der Staphylokokken.

Meine Versuche betreffs der Bestimmung der Wachstumsgrenzen der Staphylokokken bei verschiedener Temperatur und Wasserstoffionenkonzentration wurden folgendermaßen ausgeführt.

Die Zubereitung der Bouillon fand in gewöhnlicher Weise statt, indem zu jedem Liter fertiggestellter Bouillon 500 g gehacktes Kalbfleisch, 1% Pepton Witte und 0,5% Chlornatrium verwendet wurde; aus der filtrierten, aber *nicht* alkalisierten Bouillon wurden folgende Mischungen zubereitet, in welchen die Wasserstoffionenkonzentration bei 18° nach Sterilisieren (10 Minuten bei 115°) colorimetrisch gemessen wurde. (Tabelle III.)

Tabelle III.

Nr.	9 Bouillon +	0,9% NaCl	p_H 18°	Nr.	9 Bouillon +	0,9% NaCl	p_H 18°
1	0,7 $\frac{n}{2}$ -NaOH	0,3	10,90	14	0,2 $\frac{n}{1}$ -NaOH	0,8	7,40
2	0,6 "	0,4	10,60	15	0,1 "	0,9	6,75
3	0,55 "	0,45	10,45	16	0,05 "	0,95	6,40
4	1,0 $\frac{n}{1}$ -NaOH	0	10,20	17	0	1,0	6,25
5	0,9 "	0,1	10,00	18	0,03 $\frac{n}{1}$ -Ac. lactic.	0,97	6,00
6	0,8 "	0,2	9,71	19	0,07 "	0,93	5,80
7	0,7 "	0,3	9,52	20	0,1 "	0,90	5,35
8	0,6 "	0,4	9,20	21	0,12 "	0,88	5,20
9	0,55 "	0,45	9,05	22	0,14 "	0,86	5,05
10	0,5 "	0,5	8,95	23	0,18 "	0,82	4,95
11	0,45 "	0,55	8,70	24	0,23 "	0,77	4,70
12	0,4 "	0,6	8,50	25	0,30 "	0,7	4,35
13	0,3 "	0,7	8,00	26	0,40 "	0,6	4,15

Serien von diesen 26 Nährböden (10 ccm in jedem Glas) mit Wasserstoffionenkonzentrationen von $p_H = 10,90$ bis $p_H = 4,15$ wurden mit einem Tropfen 24stündiger Bouillonkultur pro Glas geimpft und in mit Toluol-Quecksilberregulator versehene Wasserbäder bei untenstehenden Temperaturen, die nur bis $0,1^\circ$ schwankten, eingestellt: $10,5^\circ - 15^\circ - 20^\circ - 26^\circ - 32^\circ - 36^\circ - 40^\circ - 42^\circ - 44^\circ - 46^\circ - 48^\circ$.

Zu verschiedenen Zeiten nach der Impfung wurden die Kulturen makroskopisch beobachtet, teils um festzustellen, bei welcher Wasserstoffionenkonzentration die Staphylokokken am besten wachsen (Optimum), d. h. in welchen Gläsern sich das Wachstum zuerst als schwache Trübung zu erkennen gibt, teils um die Wachstumsgrenzen zu konstatieren.

Die Resultate dieser Untersuchungen sind in den Abb. 2 und 3 dargestellt worden. Abb. 2 umfaßt die Versuche bei den Temperaturen von $10,5-32^\circ$ und Abb. 3 die von $36-48^\circ$.

Die auf den Abbildungen angegebenen Punkte bezeichnen die Zeitpunkte, an welchen bei den betreffenden Wasserstoffionenkonzentrationen am frühesten Wachstum beobachtet worden ist. Beim Aufzeichnen der Kurven wurde natürlich die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration mit der Temperatur berücksichtigt. Die Kulturen wurden in den ersten 12 Stunden mit einstündigen Zwischenräumen beobachtet, darauf nach 18 und 24 Stunden und schließlich in ein-tägigen Abständen bis zum 25. Tage, wo der Versuch beendet wurde.

Außer bei den erwähnten Temperaturen wurden Versuche bei $5-6^\circ$ und bei 50° angestellt; bei keiner dieser Temperaturen stellte sich aber in den 25 Tagen wahrnehmbares Wachstum ein.

Das Aussehen der Kulturen war bei den verschiedenen Temperaturen nicht dasselbe; in sämtlichen Versuchen oberhalb etwa 20° war die Flüssigkeit gleichartig getrübt, bei den niedrigeren Temperaturen

sammelten sich aber die Kokken allmählich als kleiner Fleck auf dem Boden des Glases, während die obenstehende Flüssigkeit völlig klar war.

Wenn die Temperatur oder die Wasserstoffionenkonzentration für die Entwicklung weniger günstig wird, nehmen die einzelnen Kokken

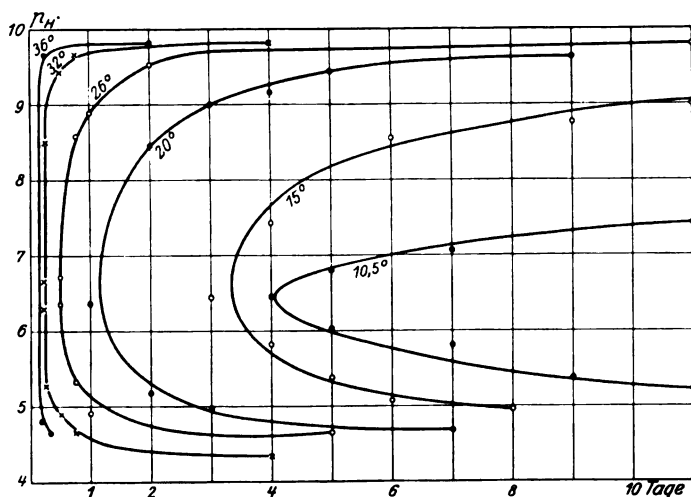


Abb. 2. Die Abhängigkeit des Wachstums von pH , Temperatur und Zeit. Staphylokokken.

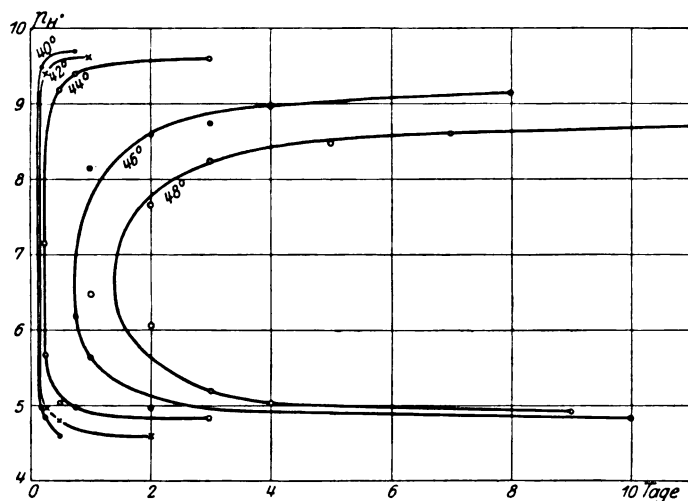


Abb. 3. Die Abhängigkeit des Wachstums von pH , Temperatur und Zeit. Staphylokokken.

oft ganz bedeutend an Größe zu, was übrigens früher u. a. von v. Lingelsheim⁵⁾, Courmont (in 11. referiert), Matzschita⁹⁾ und Raoul-Deslongchamps¹⁰⁾ beobachtet worden ist. Die Kokken vergrößern sich auch, wenn der Nährboden aus anderen Ursachen den Mikroben kümmerliche Er-

nährungsverhältnisse darbietet, z. B. bei großem Salzgehalt, starker Konzentration u. dgl.

Beide Abbildungen bedürfen keine besondere Erklärung; es geht zur Evidenz aus ihnen hervor, welcher bedeutende Einfluß von jedem der drei erwähnten Faktoren auf die Entwicklung der Staphylokokken ausgeübt wird.

Bei den günstigsten Temperaturen vermögen die Mikroben zwischen $p_H = \text{ca. } 4,5$ und $p_H = 9,8$ zu wachsen, aber diese Grenzen werden bei höheren oder niedrigeren Temperaturen natürlich etwas eingengt, so wie es Tabelle IV veranschaulicht.

Tabelle IV.

Temperatur	p_H -Grenzen für das Wachstum	
	sauer	alkalisch
10,5	5,23	7,47
15	4,96	9,10
20	4,69	9,67
26	4,67	9,82
32	4,31	9,88
36	4,64	9,79
40	4,62	9,69
42	4,62	9,65
44	4,85	9,60
46	4,84	9,15
48	4,93	8,70

Es ist aus dieser Tabelle und aus den Versuchen im ganzen genommen sehr schwierig, eine genaue Optimaltemperatur für das Wachstum festzustellen. *Bei Berücksichtigung der Zahlen auf Tabelle IV, d. h. der Wachstumsverhältnisse bei den ungünstigsten Wasserstoffionenkonzentrationen, scheint ein Optimum bei etwa 32° vorhanden zu sein; wenn man aber die Entwicklung bei den günstigsten Wasserstoffionenkonzentrationen berücksichtigt, liegt das Optimum bei etwa 34–36°.* Nach früheren Untersuchungen [Neisser¹¹)] liegt die beste Entwicklungstemperatur für Staphylokokken zwischen 24 und 38°.

Aus Abb. 2 und 3 ist es ersichtlich, daß das Wachstum bei den günstigen Wasserstoffionenkonzentrationen eigentlich erst oberhalb ca. 44° und unterhalb ca. 26° sonderlich langsamer wird.

Aus den Versuchen geht ferner hervor, daß die für das Wachstum optimale Wasserstoffionenkonzentration d. h. die Wasserstoffionenkonzentration, bei welcher die Entwicklung der Staphylokokken bei sonst gegebenen Bedingungen einsetzt, bei $p_H = \text{ca. } 6,50$ liegt, und daß dieses Optimum bei Temperaturen zwischen 10,5° und 48°, d. h. für die ganze Temperaturskala, innerhalb welcher diese Mikroben sich zu entwickeln vermögen, unverändert ist.

Es ist ja einleuchtend, daß außer diesen drei Faktoren mehrere andere für die Wachstumsverhältnisse der Mikroben mitbestimmend sind; außer der Zusammensetzung der Bouillon — sowohl quantitativ als qualitativ genommen — werde ich hier nur auf die oft bedeutenden Änderungen in der Verwendbarkeit der Nährböden aufmerksam machen, welche bei der Sterilisierung stattfinden; diese wird durch Erwärmen bis über 100° in einem Autoklaven vorgenommen, und der Umfang dieser Änderungen wird hochgradig von Zeit und Temperatur beeinflusst; diese Verhältnisse werde ich später erwähnen. Es ist unzweifelhaft, daß eine Änderung bloß in einem der erwähnten — oder anderen — Faktoren die Entwicklungsbedingungen der Mikroben modifiziert; die oben angeführten Werte können somit streng genommen nur bei dem für die Versuche verwendeten Bouillonpräparat von absoluter Gültigkeit sein, obwohl ich jedoch der Anschauung bin, daß sie im allgemeinen und in großen Zügen für alle Nährböden gleicher Zusammensetzung, d. h. für Pepton-Bouillon maßgebend sind.

2. Die Bedeutung der Wasserstoffionen-Konzentration, Temperatur und Zeit für die Staphylolysinbildung.

Die angeführten Versuche haben uns die Grenzen der Wasserstoffionenkonzentration kennen gelehrt, innerhalb welcher bei den betreffenden Temperaturen Wachstum stattfindet und damit natürlich zugleich die Grenzen des Lysinbildungsgebietes.

Wenn hier die Rede von einer Untersuchung über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Lysinbildung ist, denkt man selbstverständlich erst an die Wasserstoffionenkonzentration der Bouillon *vor* der Impfung mit Staphylokokken; indessen gibt diese keine klare Vorstellung von den tatsächlichen Verhältnissen, denn sogleich nach dem Eintreten des Wachstums fängt die Wasserstoffionenkonzentration an sich zu ändern, und die während des Wachstums in Betracht kommenden Schwankungen sind oft ganz bedeutend; um zuverlässige Aufschlüsse betreffs der Bedeutung dieses Faktors für die Lysinbildung zu erhalten, wird es deshalb nötig sein, zugleich während des Wachstums diesen Schwankungen sehr sorgfältig zu folgen.

Für die untenstehenden Versuche ist der Vergleichung halber dieselbe Bouillon (*P.*) verwendet worden, welche folgendermaßen zubereitet wurde:

25 kg fein gehacktes Kalbfleisch wird mit einer passenden Wassermenge ausgekocht, worauf das Fleisch abgeseiht und gut gepreßt wird; das Fleisch wird nochmals in derselben Weise mit Auskochen, Seihen und Pressen behandelt; in dieser 33 l ausmachenden Fleischextraktlösung wird unter Erwärmen 1,5% Pepton *sicc.* *Witte* und 2,4% Na-

triumchlorid gelöst. Nach 10 Minuten langem Kochen wird sie filtriert und auf große 2–4 l fassende Kolben verteilt, welche, nachdem sie wie gewöhnlich mit Watte und Papier geschlossen worden sind, durch 20 Minuten langes Erwärmen auf 115° in einem großen Autoklaven auf einmal sterilisiert werden. Nach dem Abkühlen werden alle Watte-stöpsel mit Paraffin überzogen, um Verdampfen zu verhindern, und die Kolben im Kühlraum bei 2–4° aufbewahrt. Vor der Verwendung werden 1000 Teile dieser Stammbouillon (*P.*) mit 2000 Teilen Leitungswasser verdünnt und filtriert; 1 l enthält somit Extraktivstoffe aus 250 g Fleisch nebst 5 g Pepton Witte und 8 g NaCl.

Die Versuche selbst wurden folgendermaßen ausgeführt: von der in der angegebenen Weise verdünnten Bouillon wurden verschiedene Mischungen mit Natronhydrat und Milchsäure*) hergestellt, um Nährböden mit den erforderlichen Aciditätsgraden zu erhalten; die alkalischen Mischungen wurden zur Ausfällung der Phosphate bis etwa 80° auf dem Wasserbad erhitzt und filtriert, jede Mischung auf eine Reihe 50 ccm Flaschen (30 ccm in jedem) verteilt, die Flaschen mit Watte-stöpsel geschlossen und durch Erhitzen in strömendem Wasserdampf (alle auf einmal und in einem Apparate) 1 Stunde in 3 aufeinanderfolgenden Tagen sterilisiert.

Jede Flasche wurde mit 1 Tropfen 24stündiger Kultur (37°) geimpft, geschüttelt und in ein großes Wasserbad bei der Versuchstemperatur eingestellt; um Verdampfen zu verhindern wurden sämtliche Flaschen mit Gummikäppchen versehen. Im Wasserbad stehen die Kulturen während der ganzen Beobachtungszeit ganz ruhig.

Nach den angeführten Zeiten wird aus jeder Mischung eine Flasche herausgenommen und aus einer solchen Probe etwa 10 ccm (nach Schütteln) in ein steriles Reagensglas gegossen, wo es zu neutraler Reaktion (Phenolrot) mittels einer geringen Menge Säure oder Alkali gebracht wird, darauf mit Toluol geschüttelt, zugekorkt und im Kühlraum für die später stattfindende Hämolyse-messung aufbewahrt.

Der Rest des Inhaltes wird sofort (ohne Filtrierung) für die colorimetrische Messung der Wasserstoffionenkonzentration verwendet, welche selbstverständlich bei der Versuchstemperatur in dem früher erwähnten mit Glaswänden versehenen Wasserbade unternommen wird.

Dieser Versuchsanordnung haftet der Nachteil an, daß das Resultat durch Messungen in einer Reihe Einzelkulturen erhalten wird; wenn man sich erinnert, in wie hohem Grade Bakterienkulturen — allen Bemühungen um Gleichartigkeit zum Trotz — sich verschieden und zwar vielleicht besonders bezüglich der Toxinbildung entwickeln können, versteht man, wie nachteilig eine solche Anordnung sein kann.

*) Mineralsäuren z. B. HCl sind oft über die Wasserstoffionenwirkungen hinaus stark bactericid.

Wenn dagegen der Versuch so eingerichtet wird, daß man anstatt der Verteilung einer Mischung auf viele kleinere Flaschen die ganze Flüssigkeitsmenge in einen großen mit Hebevorrichtung und Glöckchen zum sterilen Abziehen versehenen Kolben füllt und diesem die Proben zu den betreffenden Zeitpunkten entnimmt, wird sicher auch ein nicht unbeträchtlicher Fehler eingeführt, indem es, um eine Durchschnittsprobe zu erhalten notwendig sein wird, die Kultur vor jeder Probenentnahme zu schütteln, wodurch die normale Entwicklung der Kultur hochgradig gestört wird; ferner kann durch diese Technik die Kultur sehr leicht mit fremden Mikroben infiziert werden. Nach genauer Überlegung habe ich für diese Versuche die erst beschriebene Versuchsanordnung gewählt, da mir von großer Bedeutung zu sein scheint, daß die Kultur während der ganzen Versuchszeit ruhig steht, und daß die normale Entwicklung erst bei der Beendigung der Versuchszeit unterbrochen wird.

Nach Unterbrechung des Versuches wird der Staphylolysininhalt der Proben gemessen.

Bei diesen hämolytischen Messungen kam die von *Th. Madsen*¹²⁾ erst beschriebene und später besonders in *Staatens Seruminstitut* verbesserte Technik zur Verwendung: in Reagensglasserien (aus weißem Glase und von gleichem Durchmesser) wird die wirksame Lösung in fallenden Dosen abgemessen, das Volumen mit 0,9proz. Natriumchloridlösung bis 1 ccm aufgefüllt und jedes Glas mit 5 ccm einer 1proz. Aufschwemmung gewaschener Blutkörperchen (in diesem Falle Ziegenblutkörperchen) beschickt. Nach Schütteln werden die Mischungen 1–2 Stunden im Wasserbad bei 37° aufbewahrt, und — nach nochmaligem Schütteln — nachtsüber im Kühlraum aufgehoben. Hier setzen sich die ungelösten Blutkörperchen zu Boden, und die obestehende, völlig klare Flüssigkeit ist von gelöstem Hämoglobin mehr oder weniger rot gefärbt, während die Flüssigkeit in den Kontrollgläsern ohne Hämolysin völlig farblos ist. Die Messung des in den verschiedenen Mischungen gelösten Hämoglobins wird mittels einer Farbskala bewerkstelligt; diese ist durch Verdünnung einer Lösung von 1 ccm gewaschenen Blutkörperchen in 119 ccm destilliertem Wasser (= 100proz. Hämolysin) mittels Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung hergestellt worden.

In der ursprünglichen Technik wurden die Blutkörperchen durch Zentrifugieren 2–3 mal gewaschen, um das vorhandene Serum möglichst zu beseitigen; in einer später ausgeführten Arbeit¹³⁾, in welcher ich die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration für die Hämolyse untersuchte, habe ich dargetan, daß diese Beseitigung des Serumeiweißes in vielen Fällen nachteilig ist, indem man dadurch zum großen Teil die Blutkörperchenaufschwemmung ihrer Pufferfähigkeit beraubt.

Da die Wasserstoffionenkonzentration eine sehr bedeutende Rolle für die Wirkung der meisten Hämolytine spielt, wird es verständlich, daß diese Herabsetzung der Pufferfähigkeit zur Entstehung der sogenannten „Versuchsfehler“ beitragen kann, d. h. durch kleine Verschiebungen in der Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeiten hervorgerufene Ungleichartigkeit in den hämolytischen Serien. Damals habe ich zum Aufschwemmen der gewaschenen Blutkörperchen einen 2—3 proz. Zusatz von homologem Serum als Puffer empfohlen; spätere Untersuchungen haben indessen gezeigt, daß weit kleinere Serumengen genügen; in diesen Versuchen habe ich mit völlig befriedigendem Resultate zur Aufschwemmung der zweimal durch scharfes Zentrifugieren gewaschenen Blutkörperchen 0,5% Ziegenserum getan.

Bei hämolytischen Untersuchungen, wozu ziemlich große Mengen roter Blutkörperchen erforderlich sind, verwendet man natürlich am besten die Blutkörperchen größerer Tiere, z. B. von Pferden; die Pferdeblutkörperchen sind aber gegenüber dem Staphylolysin völlig unempfindlich. Für meine Versuche habe ich Ziegenblutkörperchen verwendet, welche unter gewissen Verhältnissen gegenüber diesem Lysin sehr empfindlich sind.

Die Wirkung des Staphylolysins auf Ziegenblutkörperchen bietet nämlich die Eigentümlichkeit dar, daß die Hämolyse sich nicht — oder in sehr geringem Grade und nur bei großem Lysinüberschuß — während des Aufenthaltes im Wasserbade bei 37° einstellt, sondern erst bei der darauffolgenden Senkung der Temperatur; dieses freilich bei keiner anderen Lysinblutkörperchenkonstellation beobachtete Verhalten habe ich schon in einer früheren Arbeit kurz erwähnt⁴⁴⁾. Durch wenige kurze Versuchsreihen habe ich diese Frage einer etwas näheren Untersuchung unterworfen: in einer Serie Zentrifugengläser wurden die angeführten Staphylolysinmengen mit 10 ccm 5 proz. Ziegenblutkörperchenaufschwemmung gemischt und in ein Wasserbad von 37° gestellt; nach den angeführten Zeiten wurden die Mischungen geschüttelt, 30 Minuten in Eiswasser gestellt und scharf zentrifugiert. Mittels einer Hämoglobinskala wurde die gelöste Hämoglobinmenge in Prozenten bestimmt.

Tabelle V.

Lysin	5 Minuten	30 Minuten	1 Stunde	2 Stunden	3 Stunden	5 Stunden
0,3	22	100	100	100	100	100
0,25	10	100	100	100	100	100
0,2	1	70	100	100	100	100
0,15	0	28	45	65	75	80

Hieraus geht hervor, daß die Zeit, während der die Mischungen auf 37° gehalten wurden, eine beträchtliche Rolle spielt; die beim späteren Abkühlen eintretende Hämolyse nimmt mit der Reaktionszeit zu.

Nach etwa 4–5 Stunden bei 37° scheint die Reaktion jedoch, praktisch genommen, beendet zu sein.

Um den Einfluß der Abkühlungstemperatur und -Zeit der Mischungen auf den Hämolysegrad zu untersuchen wurde untenstehender Versuch ausgeführt.

Bei 37° wurde eine größere Anzahl Zentrifugengläser, jedes mit 0.14 ccm Staphylolysin + 10 ccm 5 proz. Blutaufschwemmung beschickt, hingestellt. Nach einstündigem Aufenthalt bei 37° und Schütteln, wurden einige bis 20°, andere bis 15°, andere bis 10° und der Rest bis 0° abgekühlt; nach den in der Tabelle VI angeführten Abkühlungszeiten wurden die Mischungen scharf zentrifugiert und die Hämolyse darnach gemessen.

Tabelle VI.

<i>t</i>	20°	15°	10°	0°
10	16	24	32	48
20	24	33	40	55
30	30	36	45	55
40	30	36	45	55
60	30	36	45	55
90	30	36	45	55
120	30	36	45	55

Aus dieser Tabelle sieht man, daß erstens die Schnelligkeit, womit die Hämolyse sich einstellt, von der Temperatur in der Weise abhängig ist, daß *die Schnelligkeit mit fallender Temperatur zunimmt*, und zweitens, daß auch der Hämolysegrad, welcher nach dem Abklingen der Reaktion erreicht wird, von der Temperatur bestimmt wird, und zwar auch so, daß der Hämolysegrad mit fallender Temperatur zunimmt.

Daß der erzielte Hämolysegrad in so hohem Grade von der Zeit und der Abkühlungstemperatur der Mischungen abhängig ist, geht außerdem daraus hervor, daß die Hämolyse in den Mischungen, welche 120 Minuten bei 20°, 15° und 10° gestanden haben, nach Aufschwemmen der Blutkörperchen, weiterer Abkühlung (30 Minuten) auf 0° und Zentrifugieren bis 55% steigt, d. h. genau dieselbe Hämolyse wie in den Mischungen, welche die ganze Zeit bei 0° gestanden haben.

Es wird deshalb bei derartigen vergleichenden Versuchen notwendig sein, sowohl eine bestimmte Erwärmungszeit auf dem Wasserbade bei 37° zu verwenden, als zu beachten, daß die Mischungen in sämtlichen Versuchen auf dieselbe Temperatur abgekühlt werden. In meinen Versuchen habe ich 1 Stunde bei 37° erwärmt und die Proben nachtsüber bei 10° aufbewahrt.

Da Blutkörperchen, die zu verschiedenen Zeitpunkten demselben Tiere entnommen sind, erfahrungsgemäß sogar große Verschiedenheiten in ihrer Resistenz dem Staphylolysin gegenüber darbieten können,

müssen Versuche, in welchen eine absolute Vergleichbarkeit angestrebt wird, mit Blutkörperchen von demselben Aderlaß und ferner an demselben Tage ausgeführt werden.

Für die Versuche über die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration, der Temperatur und der Zeit für die Staphylolysinbildung wurden aus der erwähnten Stammbouillon *P.* die untenstehenden Mischungen zubereitet.

Bl. 1	900 ccm	Bouillon	+	45 ccm	$\frac{n}{1}$ NaOH	+	55 ccm	0,9% NaCl
Bl. 2	900	„	„	+	40 „	„	+	60 „
Bl. 3	900	„	„	+	33 „	„	+	67 „
Bl. 4	900	„	„	+	27 „	„	+	73 „
Bl. 5	900	„	„	+	18 „	„	+	82 „
Bl. 6	900	„	„	+	10 „	„	+	90 „
Bl. 7	900	„	„	+	5 „	„	+	95 „
Bl. 8	900	„	„	+	2 „	$\frac{n}{1}$ Milchsäure	+	98 „
Bl. 9	900	„	„	+	10 „	„	+	90 „
Bl. 10	900	„	„	+	20 „	„	+	80 „

Es wurden Versuche bei 42°, 35° und 25° ausgeführt, und die Resultate sind in den Tabellen VII, VIII und IX aufgeführt, in welchen sich die Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration finden und in den Tabellen X, XI und XII mit den hämolytischen Meßresultaten. Sämtliche Versuchsergebnisse sind bzw. in den Abbildungen 4, 5, 6, 7, 8 und 9 graphisch dargestellt.

a) Änderungen des p_H während des Wachstums.

Bei Betrachtung der Abb. 4, 5 und 6, welche die Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration in den Kulturen bzw. bei 42°, 35° und 25° illustrieren, wird man sehen, daß die Änderungen in den Hauptzügen bei den genannten Temperaturen dieselben sind: Anfangs stellt sich ein Fallen des p_H ein, welches jedoch allmählich mit der Zunahme der ursprünglichen Acidität der Bouillon kleiner wird, um zuletzt — in den Nährböden mit der größten Acidität — gänzlich auszubleiben. Wenn p_H in den Kulturen bis zu einem gewissen Punkte abgenommen hat, nimmt der Aciditätsgrad wieder ab, die Zeit aber, binnen welcher dieser Umschlag stattfindet, ist etwas verschieden und von dem p_H der Bouillon vor der Impfung abhängig; in den am meisten alkalischen Kulturen dauert es am längsten und allmählich mit dem kleineren ursprünglichen p_H der Kulturen kürzer.

Die Schnelligkeit, womit die Alkalescenz in den Kulturen steigt, ist ebenfalls für die verschiedenen Anfangsaciditäten verschieden; in den am meisten alkalischen Kulturen ist sie sehr gering und in denen mit der größten Acidität außerordentlich groß und zwischen diesen äußeren Punkten findet ein allmählicher Übergang statt.

Alle Kulturen zeigen das Bestreben, sich auf eine Wasserstoffionen-

konzentration zwischen p_H = etwa 8 und p_H = etwa 9 einzustellen; jedoch behalten die Kulturen, welche anfangs die größte Alkaleszenz haben, auch in der Regel fortwährend ein etwas höheres p_H als Mischungen, die anfangs weniger alkalisch waren.

Der Einfluß der Temperatur auf dieses Verhalten scheint auffallend gering zu sein, natürlich abgesehen davon, daß die Wachstumsenergie bei den verschiedenen Temperaturen verschieden ist; daß ein enger Zusammenhang zwischen der Wachstumsenergie und der Schnelligkeit der erwähnten Reaktionsänderungen besteht, ist selbstverständlich. Die Reaktionsänderungen bei 42 und 35° verlaufen ungefähr mit derselben Schnelligkeit, aber diese Temperaturen liegen auch nicht weit von der Optimaltemperatur für das Wachstum; der Versuch bei 25°, wo die Wachstumsenergie etwas kleiner ist, zeigt dagegen auch langsamer verlaufende Reaktionsänderungen.

b) Bildung des Lysins.

Die Resultate der hämolysischen Messungen in den zu den verschiedenen Zeiten entnommenen Proben der Versuche bei 42, 35 und 25° sind in den Tabellen X, XI und XII aufgeführt. In der Tabelle X sind in jeder Kolonne zwei

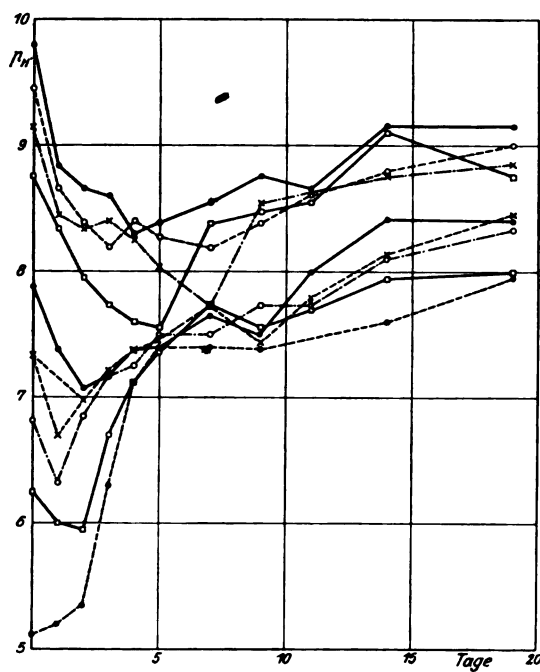
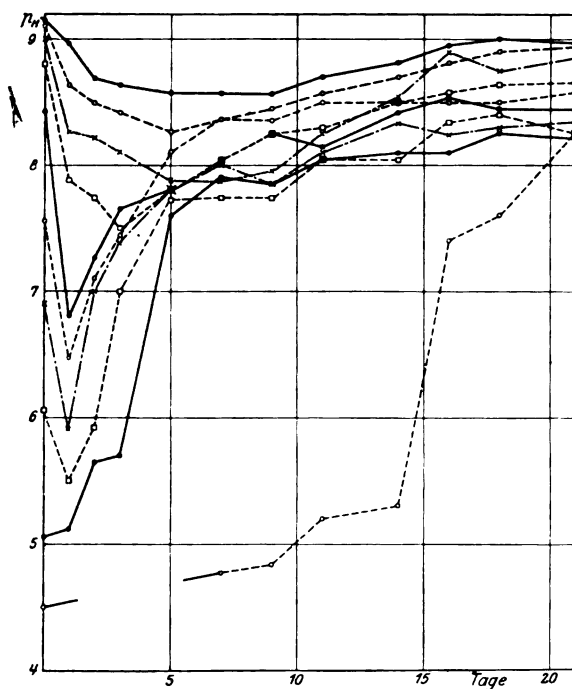
Tabelle VII.

Temp. 42°.

 p_H bei 42° gemessen.

Mischung Nr.	p_H vor dem Impfen	1 Tag		2 Tage		8 Tage		4 Tage		5 Tage	7 Tage	9 Tage	11 Tage	14 Tage	19 Tage
		Wachs- tum	p_H	Wachs- tum	p_H	Wachs- tum	p_H	Wachs- tum	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H	p_H
1	9,80	?	8,84	+	8,66	++	8,60	++	8,30	8,39	8,55	8,76	8,66	9,16	9,15
2	9,45	+	8,66	++	8,39	++	8,19	++	8,40	8,27	8,19	8,39	8,60	8,80	9,00
3	9,15	+	8,45	++	8,34	++	8,40	++	8,25	8,04	7,73	8,55	8,63	8,76	8,85
4	8,75	++	8,34	++	7,95	++	7,73	++	7,60	7,55	8,39	8,47	8,55	9,10	8,75
5	7,88	++	7,38	++	7,07	++	7,17	++	7,38	7,40	7,65	7,50	8,00	8,42	8,40
6	7,33	++	6,70	++	6,98	++	7,22	++	7,38	7,45	7,73	7,45	7,80	8,15	8,45
7	6,81	++	6,32	++	6,85	++	7,17	++	7,25	7,50	7,50	7,73	7,73	8,10	8,33
8	6,24	++	6,00	++	5,95	++	6,70	++	7,12	7,38	7,73	7,55	7,70	7,95	8,00
9	5,11	?	5,20	++	5,35	++	6,30	++	7,12	7,40	7,40	7,38	7,76	7,60	7,95
10	4,60	0		0		0		0							

0 = kein Wachstum; + = schwaches Wachstum; ++ = ziemlich starkes Wachstum; +++ = starkes Wachstum.

Abb. 4. Änderung des pH in einer Staphylokokkenkultur während des Wachstums. Temp. 42° .Abb. 5. Änderung des pH in einer Staphylokokkenkultur während des Wachstums. Temp. 85° .

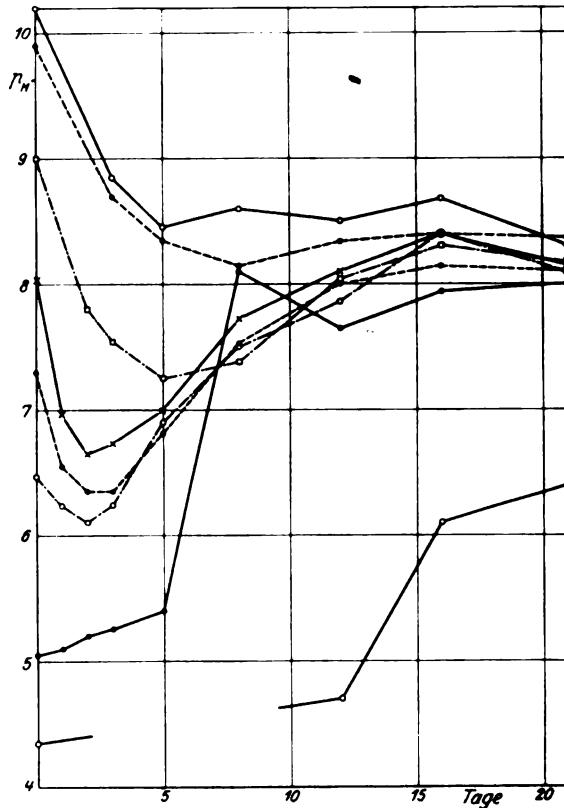


Abb. 6. Änderung des pH in einer Staphylokokkenkultur während des Wachstums. Temp. 25°.

Reihen Zahlen angeführt, von denen die eine die Hämolyse-mengen angibt, welche in dem Versuche dieselbe Hämolyse hervorgerufen haben (20%), die andere die reziproken Werte; diese geben somit die Anzahl der Lysineinheiten in 1 ccm der Kultur an, da ja eine Einheit die Lysinmenge bezeichnet, welche bei den gegebenen Versuchsbedingungen eine Hämolyse auf 20% gibt. Um die beiden folgenden und späteren Tabellen leichter übersichtlich zu machen, habe ich nur die reziproken Werte angeführt. Die in den Tabellen X, XI und XII angeführten Versuche sind in den Abbildungen 7, 8 und 9 graphisch dargestellt worden.

Man sieht sofort, welche bedeutende Rolle die Temperatur für diese Verhältnisse spielt. Der Verlauf der Lysinkurve ist in den Hauptzügen — wie bei anderen Toxinkurven — ein Steigen und ein Fallen, es geht aber aus den Versuchen deutlich hervor, daß sowohl das Ansteigen wie das Abfallen mit steigender Züchtungstemperatur sich schneller einstellt.

Die Höhe der verschiedenen Kurven (d. h. die Anzahl von Lysineinheiten pro Kubikzentimeter) ist nur innerhalb desselben Versuches (d. h. sämtliche Kurven bei einer Temperatur) vergleichbar, weil nur sämtliche Messungen an demselben Tage und mit demselben Blute unternommen worden sind.

Beim Durchgang der einzelnen Versuche wird man beobachten, daß in den Kulturen mit der größten Alkalinität kein oder ganz wenig Hämolyisin sich findet; erst in den Kulturen, deren ursprüngliches p_H etwa 8—9 ist, sind größere Hämolyisinmengen vorhanden; in den Bouillon, deren Aciditätsgrad anfänglich größer war, ist die Lysinmenge auch größer und in denen mit der größten Acidität (wo das Wachstum sich jedoch ziemlich schnell einstellt) ist die Hämolyisinmenge am größten.

Bevor es auf Grundlage dieser Versuche möglich wird, die Abhängigkeit der Lysinbildung von der Wasserstoffionenkonzentration der Temperatur und Zeit festzustellen, muß man die Bedeutung dieser drei Faktoren für die Erhaltung des gebildeten Toxins (d. h. für die Lysinabschwächung) kennenlernen, weshalb ich einige Untersuchungen über dieses Problem hier einschalte.

c) Die Abschwächung des Lysins bei verschiedenem p_H und Temperatur.

Die Frage über den Einfluß der Temperatur auf die Abschwächung der Antigene wurde zuerst von Th. Madsen einer eingehenden Bearbeitung unterzogen, und im Verlaufe der letzten 15—18 Jahre ist in dem Staatens Seruminstitut von Madsen und seinen

Tabelle X.

Temp. 42°.

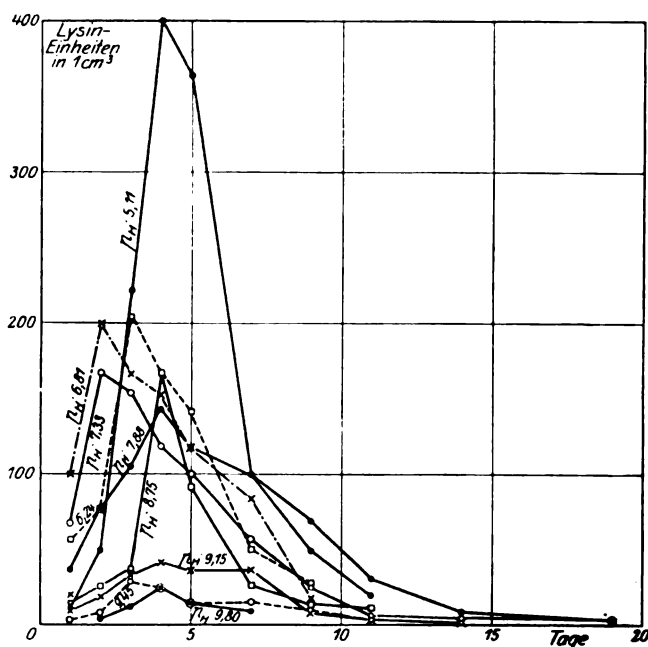
Mischung Nr.	1 Tag	2 Tage	8 Tage	4 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	11 Tage	14 Tage	19 Tage				
1	0.5	< 2	0.25	4	0.09	11.1	0.04	25	0.07	14.3	0.105	9.5	> 0.5	> 2
2	0.3	3.83	0.115	8.7	0.035	28.6	0.041	24.4	0.07	14.3	0.07	14.3	0.5	2
3	0.1	10	0.055	18.2	0.031	32.3	0.024	41.7	0.0275	36.4	0.0275	36.4	0.5	2
4	0.07	14.3	0.039	25.6	0.0275	36.4	0.006	167	0.011	90.9	0.037	27	0.125	8
5	0.0275	36.4	0.013	76.9	0.0036	106	0.007	143	0.0085	118	0.01	100	0.0145	13.3
6	0.015	66.7	0.006	167	0.0035	154	0.0035	118	0.01	100	0.018	55.6	0.04	25
7	0.01	100	0.005	200	0.003	167	0.0065	154	0.0085	118	0.012	83.3	0.056	17.9
8	0.0175	57.1	0.013	76.9	0.0049	204	0.006	167	0.0071	141	0.02	50	0.035	28.6
9	0.055	13.3	0.02	50	0.0045	222	0.0025	400	0.00275	364	0.01	100	0.02	50
													0.15	20
													0.05	2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2
													0.5	> 2

Die Zahlen geben die Anzahl der Lysineinheiten pro cem an.

Tabelle XI.

Temp. 35°.

Mischung Nr.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	7 Tage	9 Tage	11 Tage	14 Tage	16 Tage	18 Tage	21 Tage
1	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2	<2
3	<2	<2	<2	2,22	3,57	5	6,67	5	5	2,63	<2
4	1,54	2,5	3,33	4,17	4,0	6,67	8,33	8,33	6,25	5	3,33
5	3,33	10,5	10,5	11,1	11,8	15,2	18,2	16,9	9,09	11	10,1
6	6,67	16,7	25	28,6	16,7	17,9	15,9	13,3	8,33	8,33	1,79
7	8,70	31,3	38,5	54,1	44,4	40	35,7	20,4	18,2	14,3	10,1
8	4,44	16,7	33,3	83,3	71,4	62,5	47,6	35,7	21,7	16,9	11
9	<2	23,8	18,2	54,1	83,3	71,4	58,8	30,3	25	20,4	12
10	Kein Wachstum				5	6,67	8,33	15,9	20,4	10,4	5

Abb. 7. Staphylolysinbildung bei verschiedenem pH . Temp. 42°.

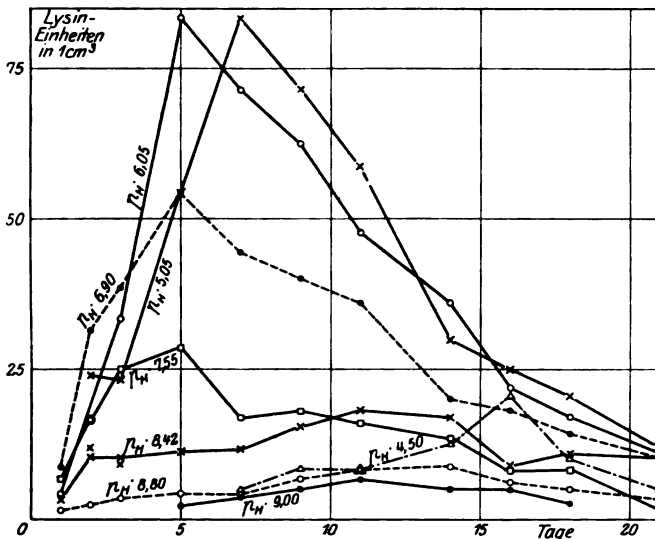
Mitarbeitern im Studium dieser Probleme eine große Arbeit geleistet worden. Diese Untersuchungen haben u. a. gezeigt, daß nicht nur die Temperatur, sondern auch andere Faktoren wie Säuren, Basen und Salze die Schnelligkeit der Abschwächung hochgradig beeinflussen können. Die Versuche mit Staphylolysin [*Madsen, Faemulener und Walbum*¹⁴⁾] 1904 liegen indessen so weit zurück, daß sie einer Nachprüfung bedurften, da man damals keine Mittel in den Händen hatte, um auf eine ge-

Tabelle XII.

Temp. 25°.

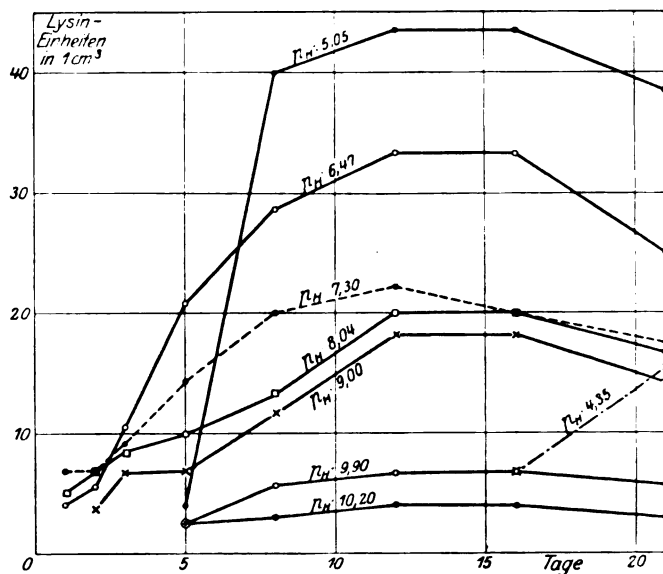
Mischung Nr.	1 Tag	2 Tage	3 Tage	5 Tage	8 Tage	12 Tage	16 Tage	21 Tage
1	—	—	—	—	—	—	—	—
2	—	—	—	—	—	—	—	4
3	—	—	<2	2,5	3	4	4	3
4	—	—	<2	2,5	5,56	6,67	6,67	5,56
5	—	3,57	6,67	6,67	11,8	18,2	18,2	14,3
6	5	6,67	8,33	10	13,3	20	20	16,7
7	6,67	6,67	9,09	14,3	20	22,2	20	17,5
8	4	5,56	10,5	20,8	28,6	33,3	33,3	25
9	<2	<2	<2	4	40	43,5	43,5	38,5
10	—	—	—	—	—	<2	6,67	15,4

Die Zahlen geben die Anzahl der Lysineinheiten pro cem an.

Abb. 8. Staphylolysinbildung bei verschiedenem p_H . Temp. 35°.

nügend praktische und zugleich genaue Weise die Wasserstoffionenkonzentration der Flüssigkeiten zu messen, deren Berücksichtigung aber eine unumgängliche Notwendigkeit ist.

Zu den Versuchen diente ein in gewöhnlicher Weise zubereitetes etwa einjähriges Staphylolysin, welches beim Darstellen mittels Milchsäure gegenüber Lackmuspapier neutralisiert worden war. Seit der Zeit wurde es, von Toluol überschichtet, im Kühlraum aufgehoben. Durch Zusatz von verschiedenen Mengen Natron oder Milchsäure wurden (wie in der Tabelle XIII angeführt) Mischungen von verschiedener Wasserstoffionenkonzentration von p_H = etwa 9,5 bis p_H = etwa 3,6 hergestellt. In diesen Mischungen wurde p_H bei 18° colorimetrisch

Abb. 9. Staphylolysinbildung bei verschiedenem pH . Temp. 25° .

gemessen und Proben auf etwa 10 ccm von jeder Mischung (+ Toluol) in Wasserbäder bei $25, 30, 35, 40$ und 45° eingestellt. Nach 6 tägigem Verbleiben bei diesen Temperaturen wurden die Proben gesammelt.

Tabelle XIII.

Nr.	9 ccm Lysin + 0,9% NaCl bis 11 ccm	pH bei 18°	pH bei 25°	pH bei 30°	pH bei 35°	pH bei 40°	pH bei 45°
1	0,6 n $_1$ -NaOH	9,46	9,33	9,24	9,16	9,06	8,97
2	0,5 "	9,29	9,17	9,09	9,00	8,92	8,83
3	0,4 "	8,96	8,85	8,78	8,70	8,63	8,55
4	0,35 "	8,82	8,72	8,65	8,58	8,51	8,43
5	0,3 "	8,54	8,45	8,38	8,32	8,25	8,19
6	0,25 "	8,30	8,22	8,16	8,10	8,04	7,98
7	0,2 "	8,04	7,96	7,91	7,85	7,80	7,74
8	0,15 "	7,67	7,60	7,55	7,50	7,45	7,40
9	0,1 "	7,35	7,29	7,24	7,20	7,15	7,11
10	0,03 n $_1$ -Milchsäure	6,52	6,47	6,44	6,40	6,37	6,33
11	0,1 "	6,05	6,00	5,98	5,95	5,92	5,89
12	0,2 "	5,39	5,35	5,33	5,30	5,28	5,25
13	0,3 "	4,90	4,87	4,85	4,83	4,82	4,79
14	0,4 "	4,58	4,56	4,54	4,52	4,51	4,49
15	0,6 "	4,19	4,17	4,16	4,15	4,14	4,12
16	0,8 "	3,94	3,92	3,91	3,90	3,89	3,88
17	1,0 "	3,78	3,77	3,76	3,75	3,74	3,73
18	1,5 "	3,63	3,62	3,61	3,60	3,59	3,58

Die Resultate der hämolytischen Messungen sind in der Tabelle XIV gesammelt, wo die angeführten Zahlen den Gehalt an Lysineinheiten pro ccm angeben.

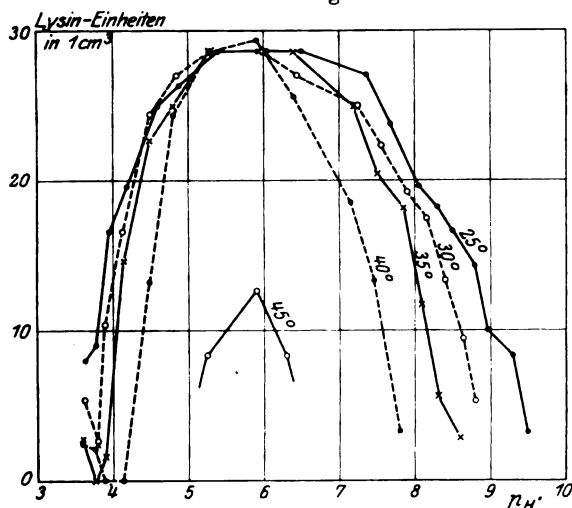
mit Milchsäure oder NaOH + 1 Tropfen Bromthymolblau zu einem p_H von etwa 7,0 neutralisiert und darnach hämolytisch gemessen.

Es stellte sich heraus, daß die Änderung der Wasserstoffionen-konzentration mit der Temperatur im Staphylolysin völlig dieselbe war wie früher für Bouillon gefunden (siehe S. 374); als das p_H der verschiedenen Proben bei 18° gemessen worden war, machte es keine Schwierigkeiten, das p_H in den Proben bei den verschiedenen Versuchstemperaturen (Tabelle XIII) zu berechnen.

Tabelle XIV.

Nr.	25° Einheiten in 1 ccm	30° Einheiten in 1 ccm	35° Einheiten in 1 ccm	40° Einheiten in 1 ccm	45° Einheiten in 1 ccm
1	3,23	—	—	—	—
2	8,33	< 2	—	—	—
3	10	5,26	< 2	—	—
4	14,3	9,52	2,86	—	—
5	16,7	13,3	5,71	—	—
6	18,2	17,5	11,8	< 2	—
7	19,6	19,2	18,2	3,33	—
8	23,8	22,2	20,4	13,3	—
9	27	25	25	18,5	< 2
10	28,6	27	28,6	25,6	8,33
11	28,6	28,6	28,6	29,4	12,7
12	28,6	28,6	28,6	28,6	8,33
13	26,3	27	25	24,4	< 2
14	25	24,4	22,7	13,3	< 2
15	19,6	16,7	14,7	< 2	< 2
16	16,7	10,4	1,79	< 2	< 2
17	9,09	2,63	< 2	2,44	< 2
18	8	5,26	2,78	2,63	< 2

Die Resultate sind in der Abb. 10 aufgezeichnet.

Abb. 10. Abschwächung des Staphylolysins bei verschiedenen p_H und Temperaturen.

Um zu probieren, ob die Resultate dieser Untersuchungen für dieses Staphylolysinpräparat eigentümlich waren, wurden einzelne entsprechende Versuche mit zwei anderen Staphylolysinen ausgeführt, das eine (28. VIII. 1920) etwa 3 Monate alt, das andere (10. IX. 1920) ganz frisch hergestellt. Die Versuche wurden jedoch nur bei 37° ausgeführt und die Resultate finden sich in der Abb. 11.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Abschwächung dieser drei untersuchten Staphylolysinpräparate in den Hauptzügen völlig gleich ist. Bei $p_H =$ etwa 6,0 findet bei Temperaturen bis 40° innerhalb der 6 Tage keine meßbare Abschwächung statt; bei 45° wird das Lysin unter diesen Bedingungen bis etwa zur Hälfte abgeschwächt.

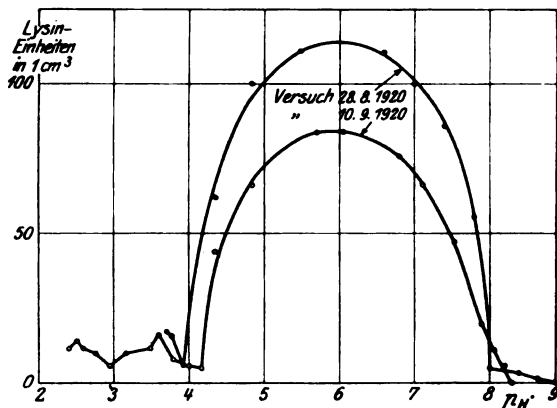


Abb. 11. Abschwächung des Staphylolysin bei 37° und bei verschiedenen p_H .

Wird die Wasserstoffionenkonzentration kleiner oder größer, so findet eine Abschwächung des Lysins statt und zwar mit allmählich größerer Schnelligkeit je alkalischer oder saurer die Flüssigkeit wird. Bei $p_H =$ etwa 8–9 und $p_H =$ etwa 4 wird die Abschwächung je nach der Temperatur und Zeit total. Die Abschwächung

gegen die saure Seite hin geht etwas schneller vonstatten als gegen die alkalische.

In dieser Verbindung verweise ich auf einige Untersuchungen von *Faemulener* und *Madsen*¹⁵⁾ über Vibriolysin, wo anscheinend entsprechende Verhältnisse vorhanden sind. Ähnliche Versuche über Vibriolysin wurden später von *Atkin*¹⁶⁾ ausgeführt, welcher zugleich in den Mischungen die Wasserstoffionen-Konzentration gemessen hat. *Atkin*, der bei $p_H = 6,1$ (bei 46°) ein Destruktionsoptimum findet, ist der Meinung, daß das Lysin ein Ampholyt sei, und daß das erwähnte Minimum mit dem isoelektrischen Punkt zusammenfalle. Das Anion und der Kation sind labil, das nicht dissoziierte Molekül ist es dagegen nicht.

d) Erklärung der Lysinkurven.

Es ist vorderhand zu vermuten, daß die Ursache des Abfallens einer Lysinkurve in der zunehmenden Alkalinität der Kultur zu suchen ist, wodurch das gebildete Toxin allmählich zerstört wird. Diese Anschauung ist auch richtig und in den Hauptzügen in mehreren Fällen durch einfache Titrationsen schon bewiesen; indessen ist es einleuchtend,

daß diese Verhältnisse sich ohne sorgfältige Berücksichtigung der wahren Acidität der Kultur d. h. ihre Wasserstoffionenkonzentration schwierig klarlegen lassen.

In der untenstehenden Tabelle XV sind die p_H der verschiedenen Kulturen beim Anfange des Fallens angeführt, sowie auch in der obersten Reihe, für jede der drei Temperaturen das p_H der Kulturen vor der Impfung. Beim Vergleichen der Wasserstoffionenkonzentration der verschiedenen Kulturen im Anfange des Fallens mit den Resultaten der eben mitgeteilten Untersuchungen über die Abschwächung des Staphylolysins bei verschiedenen p_H und Temperaturen, wird man sehen, daß bei den betreffenden Wasserstoffionenkonzentrationen und Temperaturen die Lysinabschwächung schon in vollem Gange ist.

Tabelle XV.

42°	p_H 5,11	p_H 6,24	p_H 6,81	p_H 7,33	p_H 7,88	p_H 8,75	p_H 9,15	p_H 9,45	p_H 9,80
	7,12	7,70	6,85	6,98	7,38	7,60	8,25	8,19	8,30
35°	p_H 4,50	p_H 5,05	p_H 6,05	p_H 6,90	p_H 7,55	p_H 8,42	p_H 8,80	p_H 9,00	—
	7,40	7,90	7,73	7,80	8,10	8,15	8,30	8,25	—
25°	p_H 5,05	p_H 6,47	p_H 7,30	p_H 8,04	p_H 9,00	p_H 9,90	p_H 10,20	—	—
	7,65	7,86	8,00	8,10	8,04	8,34	8,50	—	—

Bei genauerer Betrachtung der Tabelle XV wird das eigentümliche Verhalten ersichtlich, daß das p_H , bei welchem die Abnahme der Lysinkonzentration anfängt, mit der anfänglichen Alkalinität der Bouillon allmählich größer wird. Dieses Verhalten ist bei der unmittelbaren Betrachtung eigentümlich, weil man doch aller Wahrscheinlichkeit nach vermuten dürfte, daß das p_H , bei welchem das Fallen anfinge (bei derselben Temperatur), ohne Rücksicht auf den anfänglichen p_H -Wert der Bouillon dasselbe sein würde. Die Sache läßt sich wahrscheinlich so erklären: Die in einer Kultur in einem gegebenen Zeitpunkte gemessene Toxinkonzentration dürfte als Resultante der Tätigkeit der toxinbildenden und der toxinabbauenden Kräfte betrachtet werden; während die Reaktionsfähigkeit der letzteren allmählich und fortwährend mit der Temperatur und dem p_H zunimmt, findet sich für die toxinbildenden natürlich betreffs beider Faktoren eine Grenze. Es verhält sich sicher so, daß die Lysinproduktion mit steigendem p_H stark heranwächst. In den sehr alkalischen Mischungen ist die Produktion eine so große, daß die abbauenden Faktoren — natürlich nur bis zu einem gewissen Punkt — nicht imstande sind, den vorhandenen Lysinvorrat zu verringern; das Resultat ist daher, daß der Zustand, in dem der Abbau größer als die Produktion ist, d. h. der Anfang des Fallens, erst bei einem etwas größeren p_H (einer größeren Alkalinität) sich einstellt.

Diese Verhältnisse zeigen zugleich, daß ebensowohl als ein *Zeitoptimum* sich findet, ein solches auch für *Temperatur* und *Wasser-*

stoffkonzentration vorhanden sein wird, und daß die *Lage des Optimums* einer der genannten Faktoren mehr oder weniger von den beiden anderen abhängig sein muß und durch Änderungen dieser verschoben werden kann.

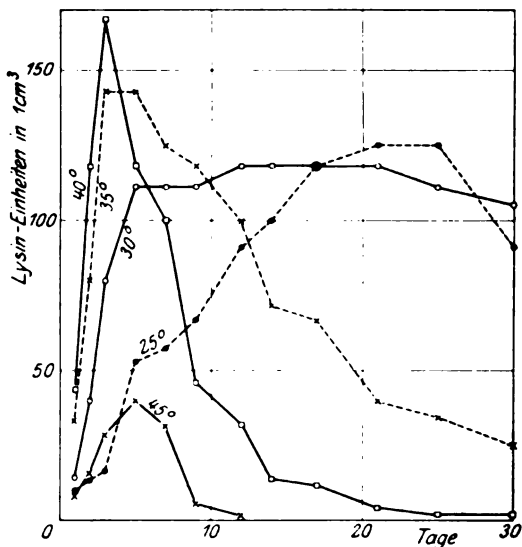


Abb. 12. Staphylolysinbildung bei verschiedenen Temperaturen.

Der Versuch ist am ehesten als eine Stütze der früheren mit Rücksicht auf die Beurteilung der Bedeutung der Temperatur und Zeit für die Hämolysinbildung ausgeführt zu betrachten, weshalb die Wasserstoffkonzentration der verschiedenen Proben nicht gemessen worden ist.

Das Ergebnis des Versuches findet sich in Tabelle XVI und Abb. 12.

Tabelle XVI.

Tage	25° Lysineinheit pro cem	30° Lysineinheit pro cem	35° Lysineinheit pro cem	40° Lysineinheit pro cem	45° Lysineinheit pro cem
1	10	14,3	33,3	43,5	8,33
2	13,3	40	80	118	15,4
3	16,7	80	143	167	28,6
5	52,6	111	143	118	40
7	57,1	111	125	100	31,3
9	66,7	111	118	45,5	5,26
12	90,9	118	100	31,3	2
14	100	118	71,4	13,3	<2
17	118	118	66,7	11,8	—
21	125	118	40	4	—
25	125	111	34,5	2,2	—
30	90,9	105	25	2	—

p_H der Bouillon vor der Impfung 6,30 bei 35°.

Das Zeitoptimum.

Aus Tabelle XVI und Abb. 12 geht hervor, daß die Optima für die Zeit bei den verschiedenen Temperaturen etwa die untenstehenden sind:

25°	30°	35°	40°	45°
<u>23</u>	<u>14</u>	<u>4</u>	<u>3</u>	5 Tage.

Die entsprechenden Ergebnisse aus den drei Versuchen bei 25, 35 und 42° sind in der Tabelle XVII gesammelt.

Tabelle XVII.

25°		35°		42°	
p_H	Optimum in Tagen	p_H	Optimum in Tagen	p_H	Optimum in Tagen
5,05	14	4,50	16	5,11	4
6,47	14	5,05	7	6,24	3
7,30	12	6,05	5	6,81	2
8,04	14	6,90	5	7,33	2
9,00	14	7,55	5	7,88	4
9,90	13	8,42	11	8,75	4
10,20	13	8,80	12	9,15	4
—	—	9,00	11	9,45	3,5
—	—	—	—	9,80	4

Die Zahlen der ersten Kolonne geben den Anfangs- p_H der Kultur und in der zweiten das Zeitoptimum in Tagen an.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß das Zeitoptimum der Lysinbildung in hohem Grade sowohl von der Temperatur als von der anfänglichen Wasserstoffionenkonzentration der Bouillon abhängig ist, worin wohl zum großen Teil die Erklärung der außerordentlich wechselnden Ergebnisse der verschiedenen Forscher gelegen ist [Lubenow¹⁷), Fränkel und Baumann¹⁸), Neisser und Wechsberg⁸)].

Das Zeitoptimum stellt sich mit steigender Temperatur allmählich früher bis um 40° ein, wo die Lysinkurve ihr Optimum nach 2—3 Tagen erreicht; bei höheren Temperaturen wird die Zeit bis zum Eintreten des Optimums wieder länger.

Betreffs der Abhängigkeit des Zeitoptimums von der Wasserstoffionenkonzentration d. h. von dem p_H der Kultur vor der Impfung, zeigen die Versuche der Tabelle XVII, daß sowohl der Versuch bei 42° wie der bei 35° ein Zeitoptimum um den Neutralpunkt haben, während im Versuche bei 25° das Zeitoptimum eigentümlicherweise von der Wasserstoffionenkonzentration anscheinend recht unabhängig ist.

Das Temperaturoptimum.

Die Frage: Welche Temperatur ist für die Staphylolysinbildung am besten? darf man dahin beantworten, daß die Lysinkonzentration, die bei den verschiedenen Temperaturen erreicht werden kann (Tempera-

turen oberhalb 40° , wo die Lysinabschwächung deutlich zunimmt, ausgenommen) fast dieselbe zu sein scheint, nur ist die Schnelligkeit der Lysinbildung von der Temperatur sehr abhängig und zwar steigt sie bis zu einem gewissen Grade mit ansteigender Temperatur (siehe Abb. 12).

Ein Temperaturoptimum kommt somit nur in bezug auf die Bildungsgeschwindigkeit vor (und liegt um 40°), nicht dagegen bezüglich der Menge des produzierten Lysins (jedenfalls in keinem besonders ausgesprochenen Grade).

Diese Schlüsse sind aus dem Versuche in Tabelle XVI (Abb. 12), wo die Wasserstoffionenkonzentration p_H 6,30 vor der Impfung war, gezogen worden; inwiefern Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration die Verhältnisse betreffs des Temperaturoptimums verändern können, habe ich nicht näher untersucht.

Die optimale Wasserstoffionenkonzentration.

Da die Wasserstoffionenkonzentration während des Wachstums eine starke Änderung erfährt, ist es keineswegs leicht, mit Sicherheit anzugeben, welche Wasserstoffionenkonzentration am günstigsten für die Lysinbildung ist. Dagegen kann man leichter die Frage beantworten: *welche Anfangs-Wasserstoffionenkonzentration in der Bouillon ist für die Staphylolysinbildung am besten?* Diese Fragestellung ist ja auch von größerem praktischen Interesse.

In der beigefügten Tabelle XVIII sind die größten der in den oft erwähnten drei Versuchen bei 25° , 35° und 42° bei den verschiedenen Wasserstoffionenkonzentrationen der ursprünglichen Bouillon erreichten Lysinkonzentrationen zusammengestellt worden.

Tabelle XVIII.

25°		35°		42°	
p_H	Einheiten pro cem	p_H	Einheiten pro cem	p_H	Einheiten pro cem
10,20	4	9,00	6,67	9,80	25
9,90	6,67	8,80	8,33	9,45	28,6
9,00	18,2	8,42	18,2	9,15	41,7
8,04	20	7,55	28,6	8,75	167
7,30	22,2	6,90	54,1	7,88	143
6,47	33,3	6,05	83,3	7,33	167
5,05	43,3	5,05	83,3	6,81	200
4,35	15,4	4,50	20,4	6,24	204
—	—	—	—	5,11	400*)

Die angeführten Zahlen bezeichnen Lysineinheiten pro cem.

*) Bei $p_H = 4,60$ war bei 42° kein Wachstum.

Wie früher erwähnt, sind die absoluten Zahlen dieser drei Reihen nicht untereinander vergleichbar, weil die Messungen zu verschiedenen Zeiten gemacht worden sind; die Zahlen innerhalb derselben Reihe

können dagegen verglichen werden. Es erhellt daraus, daß die gebildete Hämolysemenge mit dem Ansteigen der Wasserstoffionenkonzentration, d. h. mit abnehmendem p_H (jedoch nur bis $p_H = \text{etwa } 5$) größer wird; bei niedrigerem p_H sind die gebildeten Lysinmengen kleiner. Es findet sich somit nach diesen Untersuchungen bei $p_H = \text{etwa } 5,00$ ein Optimum der Wasserstoffionenkonzentration.

Man muß sich immer vergegenwärtigen, daß hier die Rede von dem p_H in der Bouillon vor der Impfung ist und keineswegs von dem p_H , bei welchem die Lysinbildung tatsächlich stattfindet.

Sucht man aber nähere Aufschlüsse über die Bedeutung der während der Lysinbildung in den Kulturen tatsächlich vorhandenen Wasserstoffionenkonzentration, so stößt man — wie oben bemerkt — auf die Schwierigkeit, daß die Wasserstoffionenkonzentration der Kultur sich fast fortwährend während des Wachstums ändert. Es läßt sich versuchen, mit der in einem bestimmten Zeitintervall z. B. an einem Tage gebildeten Lysinmenge zu rechnen und mit der während derselben Zeit geschehenen Änderung des p_H -Wertes.

In der untenstehenden Tabelle XIX habe ich bei jedem Tage die stattgefundene Vergrößerung der Lysinkonzentration in der Kultur (in Einheiten pro Kubikzentimeter) angeführt und nebenan die gleichzeitig stattgefundene Änderung in p_H notiert. Der angeführte Versuch ist der früher erwähnte, bei 42° ausgeführte. Nur die Zahlen aus dem Ansteigen der Kurven sind zur Verwendung gekommen.

Tabelle XIX.

Temp. 42° .

Anfangs- p_H	1 Tag		2 Tage		3 Tage		4 Tage	
5,11	13	5,11—5,20	37	5,20—5,35	172	5,35—6,30	178	6,30—7,12
6,24	57	6,24—6,00	20	6,00—5,95	127	5,95—6,70	—	—
6,81	100	6,81—6,32	100	6,32—6,85	—	—	—	—
7,33	67	7,33—6,70	100	6,70—6,98	—	—	—	—
7,88	36	7,88—7,38	41	7,38—7,07	28	7,07—7,17	38	7,17—7,38
8,75	14	8,75—8,34	13	8,34—7,95	10	7,95—7,73	131	7,73—7,60
9,15	10	9,15—8,45	8	8,45—8,34	14	8,34—8,40	10	8,40—8,25
9,45	3	9,45—8,66	6	8,66—8,39	20	8,39—8,19	—	—
9,80	0	9,80—8,84	4	9,80—8,66	7	8,66—8,60	14	8,60—8,30

Aus der Tabelle geht hervor, daß die Vermehrung im Laufe des ersten Tages in der Mischung am größten ist, wo sich p_H in dieser Zeit von 6,81 bis 6,32 geändert hat, am zweiten Tage ebenfalls in den Mischungen, deren p_H um 6,50 war, und am dritten und vierten Tage ist die Vermehrung am größten in den am meisten sauren Mischungen bei p_H von etwa 6,0 bis etwa 7,0 gewesen; entnehmen wir dem Versuche bei 35° die entsprechenden Zahlen, so finden wir, daß das Op-

timum des ersten Tages bei 6,90—5,91 liegt, des zweiten bei 5,91—7,00 und des dritten ebenfalls bei 5,91—7,00.

Es scheint somit, daß das wahre Wasserstoffionenkonzentrations-Optimum für die Staphylolysinbildung zwischen $p_H = 6,00$ und 7,00 liegt.

e) *Läßt das p_H sich während des Wachstums konstant halten?*

Bei der allmählichen Erweiterung unserer Kenntnisse betreffs der Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration sowohl für das Wachstum der Bakterien als für ihre übrigen Lebensäußerungen erschien es wünschenswert, diesen bedeutungsvollen Faktor während des Wachstums konstant zu halten, um dadurch den Mikroben die in jeder Beziehung besten Lebensbedingungen zu sichern. Es liegen einige spärliche Untersuchungen über diese Frage u. a. von K. G. Derby¹⁹⁾ vor, die aber zeigen, daß um das p_H nur einigermaßen konstant zu halten sehr beträchtliche Mengen Puffermischungen nötig sind und zwar so große, daß sie in vielen Fällen das Wachstum und die Toxinbildung wahrscheinlich in eine ungünstige Richtung beeinflussen würden.

Da die Wasserstoffionenkonzentration meinen Untersuchungen zufolge eine sehr bedeutende Rolle auch für die Bildung und Erhaltung des Lysins spielt, habe ich sowohl aus theoretischen als praktischen Gründen Versuche bei konstantem p_H in den Kulturen während des Wachstums unternommen.

Zu diesem Zweck habe ich u. a. folgende Versuche mit Phosphaten als Puffer ausgeführt:

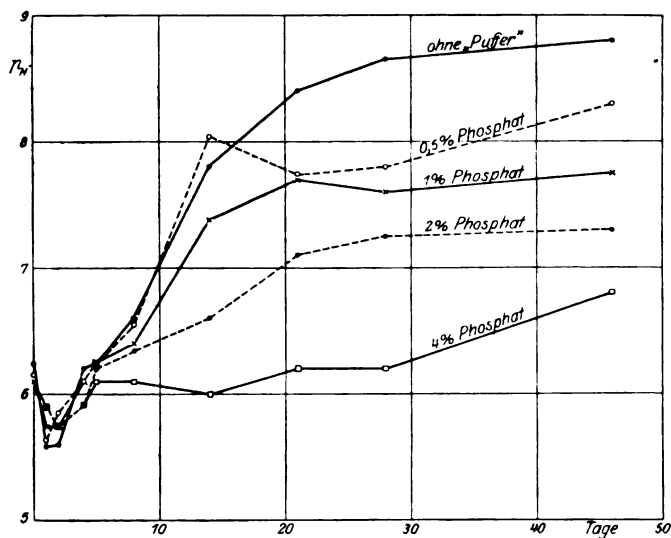
In gewöhnlicher Weise wurde eine Bouillon mit 100% Fleisch (d. h. 1000 g Fleisch zu 1 l Bouillon (siehe unten: B. 2a) 2% Pepton und 1% NaCl) zubereitet, um die Kalksalze, welche später — beim eventuellen Alkalisierungwerden der Kulturen — durch Ausfällen mit den Phosphaten stören würden, weil dadurch die Flüssigkeit eines Teiles ihrer Pufferfähigkeit beraubt werden würde, zu beseitigen, wurde die Bouillon mit NaOH deutlich alkalisch gemacht und eine kurze Zeit auf dem Wasserbad bei 80° gehalten; die ausgefällten Calciumphosphate wurden abfiltriert, und durch Zusatz einer geringen Menge Natriumphosphat zu einem kleinen Teil des Filtrates habe ich mich davon überzeugt, daß die Lösung keine fällbaren Calciumverbindungen enthielt. Die Bouillon wurde dann mittels Milchsäure auf $p_H = 6,10$ (35°) eingestellt und die untenstehenden 5 Mischungen (Tabelle XX) hergestellt; mit Puffer werden die Puffermischungen *Sörensens* bezeichnet und zwar 1,5 sekund. + 8,5 prim. Phosphat ($p_H = 6,10$), jedoch in 8mal größerer Konzentration, so daß die Lösung etwa 8% Phosphate enthält.

Tabelle XX.

Nr.		Enthält % Phos- phaten	pH' bei 35°	
			vor Auto- klavierung	nach Auto- klavierung
1	100 Bouillon + 100 Wasser		6,35	6,24
2	100 " + 12,5 Puffer + 87,5 Wasser	ca. 0,5	6,20	6,15
3	100 " + 25 " + 75 "	ca. 1	6,15	6,10
4	100 " + 50 " + 50 "	ca. 2	6,10	6,10
5	100 " + 100 "	ca. 4	6,10	6,10

Tabelle XXI.

Tage	Nr. 1		Nr. 2		Nr. 3		Nr. 4		Nr. 5	
	pH'	Lysin- einheit.	pH'	Lysin- einheit.	pH'	Lysin- einheit.	pH'	Lysin- einheit.	pH'	Lysin- einheit.
1	5,58	10	5,63	5,26	5,75	2,22	5,90	< 2	5,90	< 2
2	5,60	43,5	5,85	16,7	5,75	6,67	5,75	2,86	5,75	< 2
4	6,20	182	6,10	100	6,10	83,3	5,91	6,67	5,91	< 2
5	6,24	238	6,24	200	6,24	125	6,20	9,09	6,10	< 2
8	6,60	500	6,55	313	6,40	238	6,35	33,3	6,10	3,33
14	7,80	909	8,04	667	7,38	500	6,60	238	6,00	6,67
21	8,40	667	7,73	286	7,70	333	7,10	167	6,20	20
28	8,65	100	7,80	40	7,60	20	7,25	< 2	6,20	40
46	8,80	2,86	8,30	12,8	7,75	2,22	7,30	< 2	6,80	83,3

Abb. 18. Änderung des pH' in einer Staphylokokkenkultur mit verschiedenem Puffergehalt.

Nachdem die Mischungen im Autoklaven behandelt worden waren, wurden sie mit Staphylokokken geimpft (Versuchstemperatur 35°) und Proben zu den angeführten Zeiten entnommen; in den Proben wurden

p_H und Hämolyisinmenge wie gewöhnlich bestimmt; p_H sogleich nach dem Entnehmen der Proben, der Hämolyisininhalt dagegen erst nach 46 Tagen, wo der ganze Versuch beendet worden war. Die Versuchsergebnisse sind in der Tabelle XXI und den Abb. 13 und 14 aufgeführt. Das Wachstum war in sämtlichen Kulturen kräftig und gleichmäßig.

Es geht aus diesen Versuchen sehr deutlich hervor, daß es durch Verwendung solcher Puffer bis zu einem gewissen Grade möglich wird, die starken Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration abzuwehren, es wird aber zugleich ersichtlich, daß hierzu recht beträchtliche

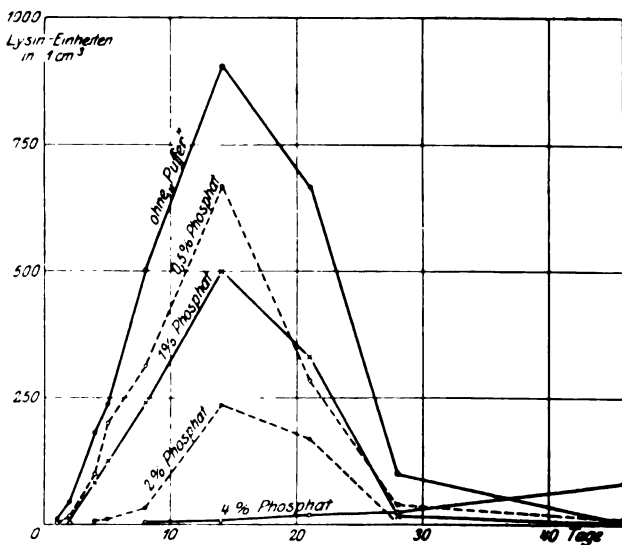


Abb. 14. Lysinbildung in einer Staphylokokkenkultur mit verschiedenem Puffergehalt.

Puffermengen erforderlich sind, wenn es gelingen soll, eine größere Änderung der Wasserstoffionenkonzentration zu verhindern; selbst bei Zusatz von etwa 4% Phosphat schwankt p_H zwischen 5,75 und 6,80.

Wie verhält sich aber die Staphylolysinbildung unter diesen Bedingungen? Dem früher mitgeteilten zufolge dürfte man erwarten, daß die Staphylolysinbildung in den Kulturen mit steigendem Puffergehalt allmählich größer werden würde, indem die geringere Alkaleszenz dem Lysin bessere Erhaltungsbedingungen darbieten würde. Es stellte sich indessen das völlig entgegengesetzte Verhalten heraus: die Lysinkonzentration erfuhr — sogar in beträchtlichem Grade — mit steigenden Puffermengen eine Abnahme. Diese Resultate können vielleicht als eine reine Salzwirkung gedeutet werden, da sie mit den später mitzuteilenden Versuchen über die Bedeutung der Natriumchloridkonzentration für die Staphylolysinbildung völlig zusammenfallen. Man wird an Abb. 14 bemerken, daß, während alle übrigen Lysinkurven ihr Maximum am

14. Tage erreichen, sich kein solches Maximum in den Kulturen mit der größten Puffermenge (4%) findet; hier ist die Lysinbildung während der ganzen Versuchszeit in schwachem aber gleichmäßigem und allmählichem Steigen begriffen; die Ursachen dieser Erscheinung werden spätere Untersuchungen beleuchten.

Die Versuche zeigen somit, daß es mittels Phosphaten zum großen Teil möglich ist, die Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration in Staphylokokkenkulturen zu beseitigen, daß aber hierzu ziemlich große Salz-mengen erforderlich sind, und daß das Vorhandensein dieser die Staphylo-lysinbildung herabsetzt oder fast aufhebt.

Es ist ja möglich, daß andere Salzkombinationen für diesen Zweck geeigneter sein würden, ich habe aber noch nicht Gelegenheit gehabt, dies zu untersuchen.

B. Die Bedeutung der Zusammensetzung des Nährbodens für Wachstum und Lysinbildung.

Daß die Zusammensetzung des Nährbodens für die Bildung der bakteriellen Toxine von großer Bedeutung ist, wurde schon früh beobachtet, weshalb immer danach gestrebt worden ist, die Nährböden auf möglichst gleichartige Weise zu bereiten und zwar nicht nur betreffs der Inhaltsstoffe und Reaktion, sondern auch bezüglich des Sterilisationsmodus, da u. a. die Erwärmungstemperatur der Flüssigkeiten in vielen Fällen eine sehr große Rolle spielt.

Schon in jüngster Zeit war die Aufmerksamkeit nicht genügend auf die sich während der Sterilisation (im Autoklaven) abspielenden Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration gelenkt; man stellte die Reaktion auf einen passenden Punkt *vor* dem Sterilisieren ein, und dachte keineswegs an eine Korrektur *nach* demselben; es ist unzweifelhaft, daß dies eine große Unsicherheit auf diesen Gebieten hervorgerufen hat und sicher noch veranlaßt. Aber selbst wenn dieses Verhalten berücksichtigt wird, ist die Unsicherheit keineswegs beseitigt, und die Ursache der Schwierigkeiten liegt darin, daß wir als Ausgangsmaterial für die Darstellung dieser Präparate fortwährend auf die beiden Produkte — *Fleisch und Pepton* — verwiesen sind, welche beträchtlich variieren können und wahrscheinlich nie von absolut gleichartiger Zusammensetzung sind. Man muß sich deshalb klar machen, daß es unmöglich ist, zu verschiedenen Zeiten derartige Nährböden von derselben qualitativen und quantitativen Zusammensetzung darzustellen; kleine Abweichungen werden sicher immer vorkommen.

Wo es sich nur um das Wachstum der Bakterien handelt, sind diese kleineren Unterschiede der Nährböden im allgemeinen von keiner wesentlichen Bedeutung, die Verhältnisse sind aber ganz andere, wenn es sich um die Bildung von Toxinen handelt. Zwar bereitet die Darstellung

der Toxine keineswegs in allen Fällen gleich große Schwierigkeiten, mitunter aber, und zwar in einigen der in praktischer Beziehung wichtigsten Fälle, wie z. B. beim Diphtherietoxin, ist es tatsächlich unmöglich, mit Sicherheit über die Toxizität eines Kulturfiltrates etwas vorauszusagen. Selbst wenn die Zubereitung des Nährbodens mit der größten Sorgfalt geschehen ist, und das Wachstum und die Entwicklung der Kultur sowohl makro- als mikroskopisch üppig und normal gewesen sind, kann die Toxinbildung minimal oder völlig ausgeblieben sein. *Th. Madsen* war der erste, der diese Verhältnisse betreffs Diphtherietoxin eingehend studierte²⁰); in seinen Versuchen war der Inhalt der verschiedenen Kolben *in der Regel* von wechselnder Toxizität, trotzdem es dasselbe Nährmedium war, welches auf die Kolben verteilt wurde, und deren Behandlung mit Sterilisieren, Impfen und Züchtung völlig dieselbe war; ja, in einzelnen Fällen wurden neben Kolben mit stark toxischen Kulturen solche aufgefunden, die fast völlig atoxisch waren.

Über die Ursache derartiger Abweichungen läßt sich mit Sicherheit gar nichts aussagen. Man ist wohl am ehesten geneigt, den Grund in irgendeiner Ungleichartigkeit der Zusammensetzung der Nährböden zu suchen, sei es, daß diese ihren Ursprung in den verwendeten Rohstoffen hat oder von verschiedenartigen Änderungen während des Sterilisationsprozesses und später während der Entwicklung der Kultur herrührt, wobei vielleicht katalytische Einwirkungen der Glaswand oder der löslichen Bestandteile des Glases u. dgl. eine Rolle spielen können. Daß derartige Einwirkungen keineswegs als geringfügige betrachtet werden dürfen, wird u. a. von meinen später zu erwähnenden Untersuchungen über die Bedeutung verschiedener Metallsalze für die Bildung des Diphtherietoxins und des Staphylolysins gezeigt, aus welchen hervorgeht, daß selbst außerordentlich geringe Mengen einzelner Metallsalze einen beträchtlichen Einfluß auf die Quantitäten gebildeten Lysins ausüben können. Die Bedeutung dieser Verhältnisse eingehend zu untersuchen, ist eine Aufgabe, die sobald als möglich auf breiter Grundlage behandelt werden dürfte, und ich habe Grund anzunehmen, daß sie interessante Beobachtungen veranlassen wird.

Obwohl wir bei der Darstellung konzentrierter Toxinlösungen — jedenfalls vorläufig — kaum die Verwendung von Fleischnährböden umgehen können, wird es jedoch in wissenschaftlicher Beziehung vielleicht gewisse Beobachtungen veranlassen können, die Bakterien auf einfacheren Nährböden, eventuell auf solchen bekannter chemischer Zusammensetzung — den sogenannten künstlichen — zu züchten, und ich habe deshalb einige Züchtungsversuche dieser Art vorgenommen.

•

1. Wachstum und Lysinbildung in einfachen Nährböden.

Es werden bekanntlich einige eiweißfreie Nährböden angegeben, auf welchen Bakterien, auch solche der pathogenen und toxischen Arten, angeblich wachsen können. Nach *Raoul-Deslongchamps*¹⁰⁾ können auch die pyogenen Staphylokokken sich in einem derartigen Nährboden, und zwar *Ushinskys*, entwickeln, jedoch erst nach längerer Gewöhnung.

Außer dem Nährboden *Ushinskys*²¹⁾ (Glycerin 3,5%, NaCl 0,6%, CaCl₂ 0,01%, MgSO₄ 0,03%, K₂HPO₄ 0,225%, Ammoniumlactat 0,65% und Natriumasparaginat 0,35%), habe ich in meinen Untersuchungen den Nährboden von *Proskauer und Beck*²²⁾ (K₂HPO₄ 0,5%, MgSO₄ 0,06%, Magnesiumcitrat 0,25%, Asparagin 0,5%, Glycerin 2% und Soda ca. 0,25%) und den von *Löwenstein und Pick*²³⁾ (Asparagin 0,6%, Ammoniumlactat 0,6%, Na₃PO₄ 0,3%, NaCl 0,6% und Glycerin 4%) verwendet, es gelang mir aber auf keinem derselben Staphylokokkenwachstum zu erzielen, und zwar selbst nach mehrmonatlicher Gewöhnung durch Mischen der erwähnten Nährböden mit abnehmenden Quantitäten von gewöhnlicher Peptonbouillon; es wurde eine keineswegs geringe Anpassung erreicht, sobald aber die Bouillonmenge kleiner als ein gewisser ziemlich minimaler Prozentsatz war, hörte das Wachstum plötzlich auf.

Diese Resultate stimmen mit der Beobachtung *Lübberts* (in 11 ref.) insofern überein, als die Staphylokokken ihren Stickstoffbedarf weder aus Ammoniak noch aus Cyansalzen, Nitraten, Asparagin oder Harnstoff decken können. Als die einfachste Stickstoffquelle wurde von *Lübbert* das Kreatin gefunden:

MgSO ₄ 0,1%	NaCl 0,1% und
K ₂ PO ₄ 0,1%	Kreatin 0,3%.

Es gelang mir indessen auch nicht, in diesem Nährboden eine Entwicklung von Staphylokokken hervorzurufen, und ich kann somit *Neisser*¹¹⁾ Recht geben, wenn er schreibt, daß Staphylokokken betreffs Nahrungsstoffen weniger anspruchslos als viele andere Bakterien sind.

Viele Mühe habe ich daran gesetzt, einen Nährboden von gekannter chemischer Zusammensetzung zu finden, worin sich diese Mikroben züchten lassen, weil ein solcher Nährboden wahrscheinlich dem Studium von den Bedingungen für Wachstum und Toxinbildung der Staphylokokken viele Vorteile darbieten würde, das Resultat war aber völlig negativ.

Beim Zusatz von einer relativ geringen Menge *Pepton Witte* zum Nährboden *Ushinskys* erhielt ich dagegen eine Lösung, in welcher die Staphylokokken verhältnismäßig gut gediehen und zugleich Hämolyse produzierten.

Nach Untersuchungen von *Raoul-Deslongchamps*¹⁰⁾ wachsen Staphylokokken gut in Peptonwasser mit bis 20% Pepton. Nach meinen Versuchen wachsen sie nicht in 0,10proz., 0,5proz. oder 1,0proz. Pepton-

lösung, in 2proz. ganz außerordentlich kümmerlich, in 3proz. besser, in 5 und 10proz. Lösung ziemlich gut*), und in der Regel *ohne Hämolysin zu bilden*. Für sämtliche Versuche wurde Pepton *Witte* verwendet, aber nur einmal (eine Peptonprobe, die mehrere Jahre im Laboratorium gestanden hatte), war die Kultur schwach hämolytisch. In einer 1proz. Lösung von Pepton *Witte* erhielt ich nie Staphylokokkenwachstum, während dagegen *das Substrat Ushinskys mit 1% Pepton* besonders gut geeignet ist.

Der einfachste Nährboden, in welchem — nach meinen Untersuchungen — die Staphylokokken sich üppig und unter Lysinbildung zu entwickeln vermögen, ist eben eine *Witte*-Peptonlösung mit Zusatz von verschiedenen Salzen oder von einem der erwähnten eiweißfreien Nährböden + etwas Pepton. Von den drei erwähnten gibt *Ushinskys* das üppigste Wachstum und die kräftigste Hämolysinbildung; der Nährboden von *Proskauer* und *Beck* ist auch sehr gut verwendbar, während *Löwenstein* und *Picks* in dieser Beziehung weniger geeignet ist und namentlich eine sehr schlechte Hämolysinbildung ergibt. Dieses Verhalten ist sicher — wie es aus untenstehendem hervorgehen wird — darin begründet, daß er kein *Magnesium enthält*, welches Metall von sehr großer Bedeutung für die Bildung des Staphylokokkenwachstums zu sein scheint.

Da die Staphylokokken somit nicht in einer verdünnten Peptonlösung (z. B. einer 1proz.) wachsen können, im Nährboden *Ushinskys* mit 1% Pepton aber sehr gut, haben wir hier eine Gelegenheit zu untersuchen, welcher oder welche Stoffe im letzteren von besonderer Bedeutung für Wachstum und Toxinbildung sind.

Es muß in diesem Zusammenhang bemerkt werden, daß Pepton *Witte* keineswegs ausschließlich aus organischen Bestandteilen besteht, sondern auch anorganische Stoffe enthält; drei verschiedene Präparate ergaben bzw. 1,34%, 1,93% und 1,99% Asche.

Bei der Untersuchung einer zufälligen Peptonprobe (*Witte*) wurden 1,023% Ca, 0,00289% Mg und 0,0223% P (das letzte jedoch in organischer Verbindung) gefunden; in der Peptonasche ließen sich ferner Na und ziemlich viel Fe nachweisen. Diese Inhaltsstoffe müssen natürlich bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse in Betracht gezogen werden.

Die Versuche wurden so ausgeführt, daß in jeder Mischung 1% Pepton und ein oder mehrere der Stoffe aus *Ushinskys* Nährboden vorhanden waren, und zwar in derselben Konzentration, wie von *Ushinsky* angegeben (siehe oben).

In den Mischungen wurden die 7 Stoffe so in ihrem gegenseitigen Verhältnis variiert, daß alle möglichen Zusammenstellungen (vorausgesetzt daß entweder 1, 2, 3, 4, 5 oder 6 der Stoffe in den Mischungen vorhanden waren) untersucht worden sind.

*) Das Wachstum ist jedoch eigentümlich verkrüppelt und verfilzt.

Aus Mischung, wo 1 der Stoffe vorhanden ist, sind somit 7 Kombinationen möglich.

"	"	2	"	"	"	"	"	"	21	"	"
"	"	3	"	"	"	"	"	"	35	"	"
"	"	4	"	"	"	"	"	"	35	"	"
"	"	5	"	"	"	"	"	"	21	"	"
"	"	6	"	"	"	"	"	"	7	"	"

Zur Verwendung kamen *Kahlbaums* reine Reagenzien mit „Garantie-schein“. Von jeder Mischung wurden 10 ccm zubereitet, welche in 2 gleich große Portionen geteilt wurden, von denen die eine mit Zusatz von wenigen Tropfen Rosolsäurelösung und so viel NaOH (0,1 n), daß die Wasserstoffionenkonzentration beim Vergleichen mit einer Standardlösung (8 sek. Phosphat + 2 prim. Phosphat-*Sörensen*) $p_H = 7,38$ ward. Zur anderen Hälfte der Mischung wurde danach eine genau ebenso große Menge 0,1 n.-NaOH gesetzt und die Lösung darauf 15 Minuten bei 115° im Autoklaven sterilisiert. Nach Abkühlen wurde mit 1 Tropfen einer Verdünnung von 1 Tropfen 24stündiger Bouillonkultur zu 10 ccm sterilem Wasser geimpft. Nach 5tägigem Aufenthalt im Thermostaten bei 37° wurden die Kulturen herausgenommen, makro- und mikroskopisch untersucht und ferner auch auf Hämolyse in der früher erwähnten Weise geprüft.

Tabelle XXII.

	Glycerin	CaCl ₂	MgSO ₄	K ₂ HPO ₄	NaCl	Ammon-lactat	Natr. asparagin	Wachstum	Lysin	
Mit 1 Ushinsky-Stoff	×	×	×	×	×	×	×	0 0 0 + 0 0 0	+	Mit K ₂ HPO ₄ : Wachstum und schwache Lysinbildung
Mit 2 Ushinsky-Stoffen	×	×	×	×	×	×	×	0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 +		In diesen Mischungen findet sich kein K ₂ HPO ₄

In den übrigen 9 der 21 möglichen Zusammenstellungen war sowohl Wachstum als Lysinbildung.

0 bezeichnet: Kein Wachstum oder keine Lysinbildung; + bezeichnet: Wachstum oder Lysinbildung.

Es ist somit recht eigentümlich, daß falls außer K_2HPO_4 zugleich asparaginsaures Natron zugegen ist — trotz ziemlich guten Wachstums —, kein Hämolysin gebildet wird. In den übrigen Mischungen.

in welchen sich wohl Wachstum aber keine Hämolysinbildung nachweisen läßt, sind auch diese beiden Salze vorhanden; in den Mischungen $K_2HPO_4 + CaCl_2 + NaCl$ findet jedoch keine Lysinbildung statt, wohl aber recht gutes Wachstum.

In diesen Mischungen, wo Wachstum aber kein Lysin vorhanden ist, findet sich kein $MgSO_4$; beim Hinzufügen dieses Salzes zu diesen Mischungen wird eine starke Lysinbildung erzielt.

Diese Untersuchungen zeigen somit, daß K_2HPO_4 von großer Bedeutung für das Wachstum ist, denn in sämtlichen Mischungen, wo es vorkommt, hat sich Wachstum eingestellt; ferner, daß $MgSO_4$ von großer Bedeutung für die Hämolysinbildung ist, da in sämtlichen Kulturen, in welchen dieses Salz vorkommt, Hämolysinbildung vorhanden ist.

Dagegen kann man in Mischungen ohne K_2HPO_4 sehr gut Wachstum finden, ebenso wie man auch in Kulturen ohne $MgSO_4$ Lysinbildung treffen kann, was so zu verstehen ist, daß diese Salze in gewissen Kombinationen sich durch andere ersetzen lassen; die Hämolysinbildung wird jedoch bei Abwesenheit des $MgSO_4$ bei weitem nicht so stark.

Da Pepton Witte nach meinen in mehreren Proben vorgenommenen Analysen C, N, H, O, S, P (organisch gebunden), Cl, Na, Ca, Fe und Mg enthält, können den Inhaltsstoffen des Nährbodens *Ushinskys* nur im K_2HPO_4 neue Grundstoffe zugeführt werden, und zwar K und P in anorganischer Verbindung. In den Mischungen, wo dieses Salz nicht vorhanden ist, wird das Wachstum und die Lysinbildung somit nicht von einer Zufuhr neuer Grundstoffe bedingt. Daß Wachstum und Lysinbildung jedoch vorkommt, ist wohl darin gelegen, daß einige der Grundstoffe in einer leichter assimilierbaren Form oder in einer größeren Konzentration vorkommen, oder vielleicht auch in chemischen Umsetzungen zwischen den vorhandenen Stoffen. Daß Zusatz von einem Magnesiumsalz eine so bedeutende Rolle spielen kann, trotzdem im voraus in der Mischung Magnesium zugegen ist (vom Pepton stammend), rührt wahrscheinlich daher, daß eine gewisse höhere Konzentration erforderlich ist, um eine wahrnehmbare Wirkung hervorzurufen.

Wie wir gesehen haben, ist Zusatz von Pepton Witte zum Nährboden *Ushinskys* für das Gedeihen und die Giftbildung der Staphylokokken eine notwendige Bedingung, und es darf wohl als wahrscheinlich betrachtet werden, daß diese Wirkung größtenteils von den im Peptonpräparate vorkommenden organischen Stoffen herrührt. Indessen besteht das Pepton Witte natürlich keineswegs aus einem einzelnen organischen Stoff, sondern aus einer Mischung mehrerer; um zu untersuchen, welche derselben in der erwähnten Beziehung von größter Bedeutung sind, habe ich nach Kühne²⁴⁾ eine Spaltung in

1. Albumosen,
2. Peptone und Hexonbasen und
3. Aminosäuren

unternommen, und danach die Verwendbarkeit jeder dieser Fraktionen untersucht.

200 g Pepton Witte werden in 1000 ccm destilliertem Wasser gelöst, zur Siedehitze erwärmt und sorgfältig mittels HCl neutralisiert, ferner mit Ammoniumsulfat gesättigt und nach Abkühlung filtriert. Der Bodensatz wird gepreßt, gelöst und noch zweimal gefällt (jedesmal in 1000 Wasser), dialysiert bis zum Verschwinden des H_2SO_4 in 200 ccm gelöst (= Albumosen; 1 ccm = 1 g Pepton Witte).

Das Filtrat wird zum Kochen erhitzt und mittels Ammoniak und Ammoniumkarbonat stark alkalisch gemacht, danach wieder mit Ammoniumsulfat gesättigt, nach Abkühlen filtriert und bis zum völligen Verschwinden des NH_3 -Geruches gekocht; wieder mit Ammoniumsulfat gesättigt, darauf mit Essigsäure angesäuert und nach Abkühlen filtriert.

Dieses Filtrat wird auf dem Wasserbad stark eingeeengt und der größte Teil des Ammoniumsulfates durch Krystallisation entfernt. Die Mutterlauge wird mit einer passenden Menge Wasser verdünnt, warmes gesättigtes Barytwasser zugegeben und zum völligen Verschwinden des NH_3 gekocht. Man muß darauf achten, daß kein Überschuß von Barythydrat vorhanden ist; dann und wann werden Proben entnommen, die filtriert und auf Sulfate geprüft werden, und wenn nur eine geringe Menge Sulfat übrig ist, wird diese mit kohlen-saurem Baryt beseitigt; aus dem Filtrat wird das Baryt mit der eben nötigen Menge Schwefelsäure entfernt.

Zum Filtrate setzt man 6% Schwefelsäure (Verdünnung) und fällt mit einem großen Überschuß von Phosphorwolframsäure. Der Niederschlag wird erst mit 6proz. H_2SO_4 gewaschen, darauf mit sehr viel Wasser; er wird dann mit einem Überschuß von Baryt zerlegt, filtriert, das Baryt aus dem Filtrate mit der notwendigen Menge H_2SO_4 entfernt und das Filtrat auf 200 ccm eingeeengt (= Peptone und Hexonbasen; 1 ccm = 1 g Pepton Witte).

Das Filtrat aus der Fällung mit Phosphorwolframsäure wird mit überschüssigem Baryt gefällt, filtriert und das Baryt mit der nötigen Menge Schwefelsäure beseitigt; Eindampfen auf 200 ccm (= Aminosäuren; 1 ccm = 1 g Pepton Witte).

Die drei Fraktionen wurden durch Zusetzen in einer Menge von 2% zum Nährboden *Ushinskys* untersucht; im Nährboden mit Albumosen entwickelten sich die Staphylokokken nur sehr spärlich, jedoch wurde eine geringe Menge Hämolyisin gebildet. In den beiden anderen Nährböden: 1. mit Peptonen und Hexonbasen und 2. mit Aminosäuren stellte sich ein bedeutend besseres Wachstum und Hämolyisinbildung ein. In einem vierten Nährboden, wo zur Lösung *Ushinskys* sowohl Pepton als Hexonbasen und Aminosäuren zugetan worden waren, war gutes Wachstum und Hämolyisinbildung vorhanden; in keiner dieser Kulturen war aber weder Wachstum noch Hämolyisinbildung so kräftig wie in einer Kontrollkultur mit unbehandeltem Pepton allein.

Bei der vorgenommenen Spaltung des Peptons sind offenbar entweder Stoffe verlorengegangen oder Verbindungen zertrümmert worden, welche für die Entwicklung der Bakterien von großer Bedeutung sind. Aus dem Versuche geht also hervor, daß die im Pepton Witte befind-

lichen Stoffe, welche für die Ernährung der Bakterien von größtem Wert sind, kaum von den Albumosen (welche bekanntlich den Hauptteil des Präparates ausmachen) herrühren, sondern von den bei dem Verdauungsprozesse weiter abgebauten Verbindungen.

2. Wachstum und Lysinbildung in Bouillon.

Selbst wenn es gelingt, wie aus der voranstehenden Untersuchung hervorgeht, Wachstum und Hämolysinbildung der Staphylokokken in relativ einfach zusammengesetzten Nährböden hervorzurufen, werden sie hier weit geringer als bei Züchtung in gewöhnlicher Peptonbouillon. Die Muskelextraktivstoffe geben somit den besten Nährboden für die Mikroben ab, eine Erfahrung, die ebenso alt wie die bakteriologische Forschung ist. In diesem Kapitel werde ich die Resultate einiger Untersuchungen über die Bedeutung der Fleisch-, Pepton- und Salzkonzentration für Wachstum und Lysinbildung der Staphylokokken mitteilen, und ferner Versuche über den Einfluß, welcher von dem Sterilisationsprozesse (durch Erwärmen) auf Nährböden dieser Art ausgeübt wird.

a) Die Bedeutung der Fleischkonzentration.

Für diese Versuche sowohl als für die Versuche über die Bedeutung der Pepton- und Salzkonzentration wurde dasselbe in gewöhnlicher Weise durch Auskochen mit darauffolgendem Auspressen von gehacktem, fettfreiem Kalbfleisch hergestellte Bouillonpräparat verwendet. Das Auskochen wurde mit Leitungswasser vorgenommen, und zwar so, daß aus 1000 g Fleisch, 1000 g Infus (diese Konzentration wird 100%

Tabelle XXIV.

0,5% Pepton, 0,8% NaCl.

Temp. 37°.

°/o Fleisch	pH vor Impfung	1 Tag		2 Tage		8 Tage		5 Tage		8 Tage		12 Tage		16 Tage	
		pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten
5	6,60	5,80	8	6,64	23,3	7,25	43,5	7,73	43,5	8,30	80	8,40	80	8,55	66,7
10	6,47	5,85	20	6,40	66,7	6,95	80	7,73	100	8,04	147	8,34	145	8,50	105
25	6,35	5,30	28,6	6,30	192	6,20	286	6,90	333	7,78	400	7,90	370	7,80	238
50	6,30	5,60	35,7	5,91	143	5,91	217	6,25	286	6,65	313	7,65	313	7,73	233
75	6,47	5,85	40	6,05	143	6,05	192	6,50	283	6,65	303	7,50	286	7,80	230
100	6,30	5,85	31,3	5,80	100	6,05	167	6,25	250	7,00	286	7,55	286	7,40	222

Es wurden 2 solche in den Hauptzügen übereinstimmende Versuche ausgeführt.

Fleisch genannt) hergestellt wurde; aus dieser konzentrierten Bouillon wurden durch Verdünnen mit Leitungswasser die übrigen Konzentrationsgrade dargestellt; nach Lösung der zugesetzten Pepton- und Salzmengen wurde filtriert und die Reaktion mittels $\frac{1}{1}$ -NaOH (in der Bouillon mit 5% und 10% Fleisch jedoch mittels $\frac{1}{1}$ -Milchsäure) auf p_H = etwa 6,5 gebracht. Um keine größeren Änderungen als die eben nötigen in der Wasserstoffionenkonzentration der Nährböden hervorzurufen, wurde die Sterilisation nicht im Autoklaven, sondern durch 1stündliches Er-

hitzen auf 100° an 3 aufeinanderfolgenden Tagen vorgenommen. Der Nährboden wurde auf mit Wattestöpsel und Gummikäppchen versehene 50 ccm Flaschen, jede mit 30 ccm, verteilt. Nach Impfen in gewöhnlicher Weise wurden die Kulturen im Thermostaten bei 37° aufbewahrt, Proben zu den angeführten Zeiten entnommen, und diese auf dieselbe Weise wie auf S. 380 und den folgenden beschrieben, behandelt.

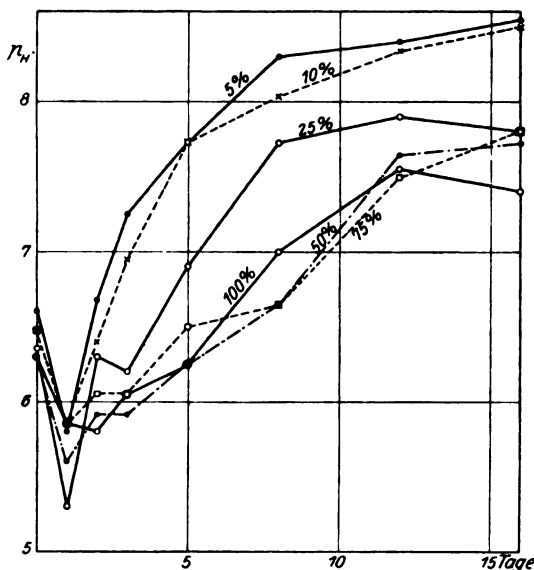


Abb. 15. Änderung des p_H in einer Staphylokokkenkultur bei verschiedener Fleischkonzentration.

Die Resultate sind auf Tab. XXIV und in den Abb. 15 u. 16 aufgeführt.

Es geht aus diesen Versuchen sehr deutlich hervor, daß die Fleischkonzentration, wie zu erwarten, eine sehr bedeutende Rolle, sowohl mit Bezug auf die Änderungen in der Wasserstoffionenkonzentration der Kulturen wie auf die Lysinbildung spielt. Auf der Abb. 15 sieht man, daß die größten Änderungen des p_H in den Kulturen mit der kleinsten Fleischkonzentration 5% vor sich gehen, darnach kommen die Kulturen mit 10%, darauf die mit 25% und schließlich die mit 50, 75 und 100% Fleisch; die drei letzteren lassen keine größeren Unterschiede erkennen. Die Erklärung des Verlaufes dieser Kurven ist unzweifelhaft hauptsächlich in der mit der Fleischkonzentration steigenden Pufferfähigkeit zu suchen; obwohl anzunehmen wäre, daß die Menge der gebildeten alkalischen Produkte mit zunehmender Fleischkonzentration steigt, liegen die Verhältnisse so, daß die Kultur mit der geringsten Fleischkonzentration die Kurve der höchsten Alkalinität gibt, die Kultur mit

der nächstkleinsten Fleischkonzentration die Kurve der nächstniederen Alkalinität usw. Dies kann nur als Ausdruck dafür gelten, daß die mit der Fleischkonzentration zunehmende Pufferfähigkeit von verhältnismäßig größerer Ausdehnung als die gleichzeitig zunehmende Alkalibildung ist.

Würde man aus diesen Kurven etwas betreffs der Lysinbildung schließen, dürfte es wohl mit Hinblick auf den Zerfall des gebildeten

Hämolysins das sein, daß die gefundene Lysinmenge in der Kultur mit 5% Fleisch am geringsten war, um darnach mit der Fleischkonzentration zu steigen. Die Abb. 16 zeigt, daß diese Betrachtung bis zu einem gewissen Grade zutreffen kann, da die Lysinmenge der Kultur mit 5% sehr gering ist, und in der Kultur mit 10% Fleisch nicht viel größer; hierauf zeigt sich aber das überraschende Verhalten, daß die größte Lysinmenge in der Kultur mit 25% Fleisch zu finden ist, die Kurve für 50% Fleisch liegt etwas niedriger, die für 75% noch niedriger, und die Kurve für 100% am niedrigsten, aber noch bedeutend höher als die Kurven für 5 und 10%.

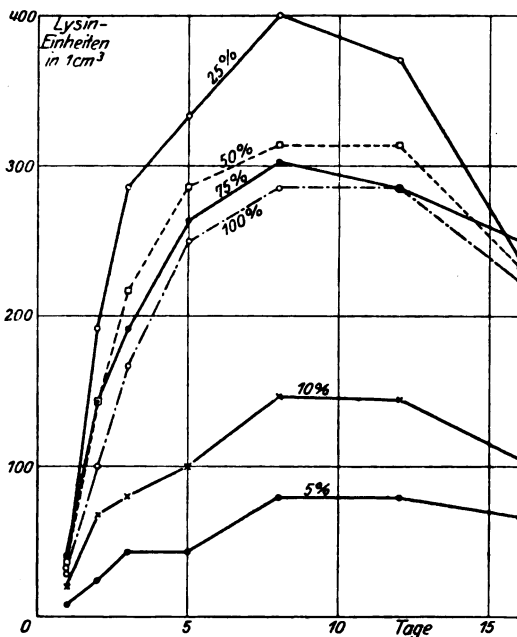


Abb. 16. Lysinbildung in einer Staphylokokkenkultur bei verschiedener Fleischkonzentration.

Die Ursache dieser abnehmenden Lysinbildung in den Kulturen mit den großen Fleischkonzentrationen können vielleicht von dem gleichzeitig mit der Fleischkonzentration zunehmenden Gehalt an anorganischen Salzen (Phosphate usw.) herrühren, welche wie früher erwähnt, die Lysinbildung hemmen.

b) Die Bedeutung der Peptonkonzentration.

Die Resultate dieser Versuche sind an der Tabelle XXV und in den Abb. 17 und 18 aufgeführt.

Diese Versuche zeigen, daß das Pepton, wie übrigens bekannt, eine nicht sehr geringe Pufferfähigkeit besitzt (Abb. 17). Betreffs der Lysin-

bildung (Abb. 18) ist die erzielte Lysinkonzentration, von der Kultur mit 5% Pepton abgesehen, wo die Lysinmenge sehr gering ist, bei den

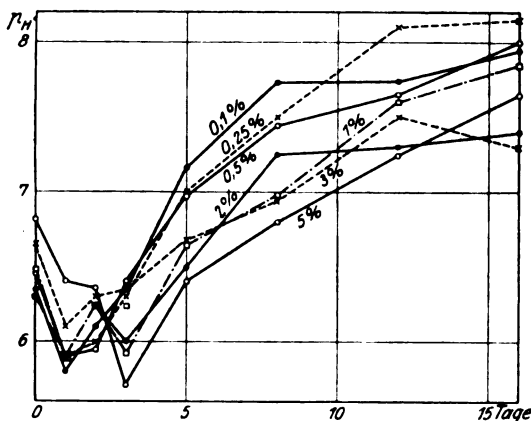


Abb. 17. Änderung des p_H in einer Staphylokokkenkultur bei verschiedener Peptonkonzentration.

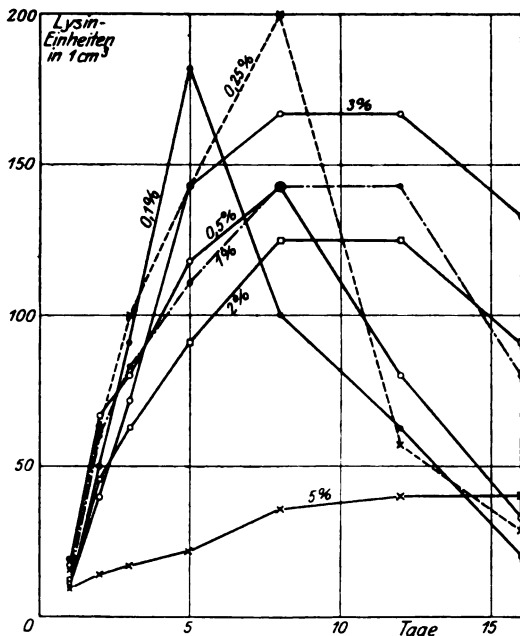


Abb. 18. Lysinbildung in einer Staphylokokkenkultur bei verschiedener Peptonkonzentration.

wechselnden Peptonkonzentrationen nicht besonders verschieden; dagegen scheint die Produktionsgeschwindigkeit in den Kulturen mit den kleinen Peptonmengen (0,1–0,25%) etwas größer zu sein, andererseits fängt das Fallen der Lysinkurve in diesen beträchtlich früher an als in denen mit den größeren Peptonmengen.

In den Kulturen mit 5% Pepton ist die Hämolysinbildung wohl eine geringe, aber in steter Zunahme begriffen, und erinnert in diesem Verhalten viel an die Kurve mit der größten Puffermenge in Abb. 14.

c) Die Bedeutung der Natriumchloridkonzentration.

Die Versuchsergebnisse sind auf Tabelle XXVI und in Abb. 19 und 20 aufgeführt.

Daß ein wechselnder Salzgehalt in den Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration Änderungen hervorrufen könne, war a priori unwahrscheinlich, und wie es aus der Abb. 19 ersichtlich ist, sind die verschiedenen p_H -Kurven

untereinander ganz übereinstimmend, mit Ausnahme der Kurve für die Kultur mit der größten Salzkonzentration (5%). Es ist schwer verständlich, wo die Ursache der kleineren Änderung des p_H in diesen

Kulturen gelegen sein kann, um so mehr, als die Üppigkeit des Wachstums, jedenfalls für eine makroskopische Beurteilung, in diesen Kulturen keinesweges kleiner war als in denen mit einem geringeren Salzgehalt.

Die Hämolyysinbildung dieser Kulturen ist dagegen von der Salzkonzentration hochgradig in der Weise abhängig, daß sie in den Kulturen mit der kleinsten Salzmenge (0,1%) am größten ist und mit steigender Salzkonzentration gleichmäßig abnimmt; in den Kulturen mit 5% NaCl ist die Hämolyysinbildung außerordentlich gering.

Fassen wir die Resultate dieser Versuche über die Bedeutung der Fleisch-, Pepton- und Salzkonzentration zusammen, so ergibt sich, daß die günstigsten Bedingungen für die Staphylolyysinbildung in einer Peptonbouillon zu finden sind, wozu etwa 250 g Kalbfleisch zu 1000 g fertiggestellter Bouillon verwendet worden sind und die z. B. 1% Pepton Witte und 0,1% Natriumchlorid (oder vielleicht noch besser ohne Zusatz von NaCl) enthält.

d) Die Bedeutung des Sterilisierens.

Es ist eine verhältnismäßig frühzeitige Erfahrung, daß der Titer der Bouillonnährböden bei dem Erhitzen während der Sterilisation sich so ändert, daß die Acidität mit steigender Temperatur und Erwärmungszeit allmählich größer wird.

Schon im Jahre 1897 beobachtete Deeleman⁴⁾ derartige Änderungen der bakteriologischen Nährböden und schlug vor, den Titer nach der Sterilisation

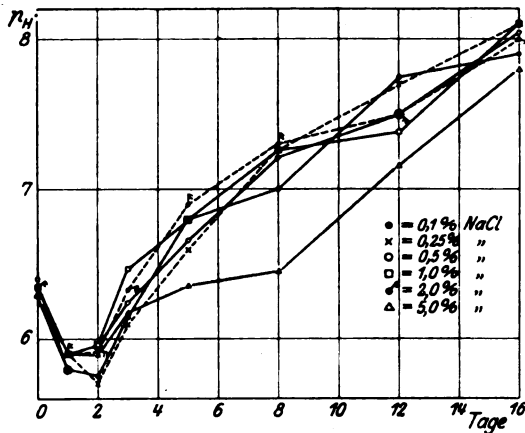


Abb. 19. Änderung des pH in einer Staphylokokkenkultur mit verschiedener NaCl-Konzentration. Temp. 87°.

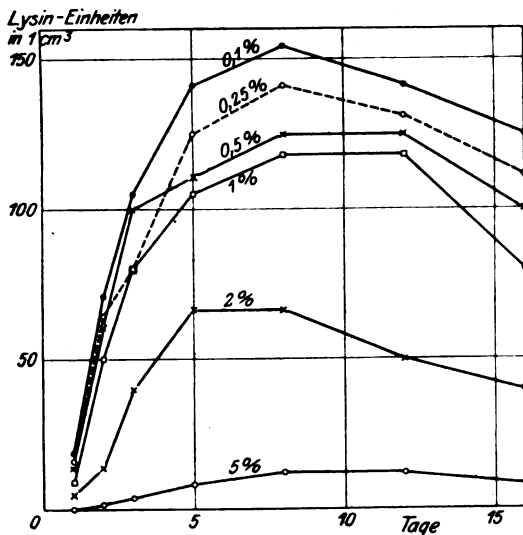


Abb. 20. Staphylolyysinbildung bei verschiedener NaCl-Konzentration. Temp. 87°.

Tabelle XXV.

25 % Fleisch und 0,8 % NaCl.

Temp. 37°.

Pepton „	pH vor Impfung	1 Tag		2 Tage		3 Tage		5 Tage		8 Tage		12 Tage		16 Tage	
		pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten
0,1	6,35	5,80	10	6,10	50	6,35	90,0	7,17	182	7,73	100	7,73	62,5	7,95	20
0,25	6,30	5,90	15,4	6,00	62,5	6,30	100	7,00	143	7,50	200	8,10	57,1	8,15	28,6
0,5	6,30	5,90	16,7	5,95	66,7	6,40	80	6,98	118	7,45	143	7,65	80	8,00	83,3
1,0	6,47	5,90	18,2	6,24	60,6	5,91	83,3	6,64	111	6,98	143	7,60	143	7,83	80
2,0	6,45	5,90	11,8	6,24	45,5	6,00	62,5	6,50	90,9	7,25	125	7,30	125	7,40	90,9
3,0	6,65	6,10	11,1	6,30	40	6,35	71,4	6,65	143	6,95	167	7,50	167	7,80	138
5,0	6,81	6,40	10	6,35	14,3	5,70	16,7	6,40	22,2	6,80	35,7	7,25	40	7,65	40

Es sind 2 in den Hauptzügen übereinstimmende Versuche ausgeführt worden.

Tabelle XXVI.

25 % Fleisch und 0,5 % Pepton.

Temp. 37°.

NaCl %	pH vor Impfung	1 Tag		2 Tage		3 Tage		5 Tage		8 Tage		12 Tage		16 Tage	
		pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten	pH	Lysin- einheiten
0,1	6,30	5,80	18,2	5,75	71,4	6,15	105	6,81	143	7,00	154	7,74	143	7,90	125
0,25	6,30	5,90	16,7	5,70	64,5	6,10	80	6,60	125	7,25	143	7,70	133	8,10	111
0,5	6,40	5,80	14,7	5,95	60,6	6,24	100	6,65	111	7,22	125	7,50	125	8,04	100
1,0	6,35	5,90	8,33	5,95	50	6,47	80	6,81	105	7,25	118	7,38	118	8,10	80
2,0	6,35	5,90	5	5,91	14,3	6,35	40	6,90	66,7	7,30	66,7	7,50	50	8,00	40
5,0	6,30	5,90	0	5,90	1,43	6,15	4	6,35	8	6,45	11,8	7,17	11,8	7,80	8

Es sind 2 in den Hauptzügen übereinstimmende Versuche ausgeführt worden.

durch Hinzufügen von einer passenden Menge Alkali zu korrigieren. Unter mehreren Forschern, welche diese Verhältnisse beschrieben haben, erwähne ich hier *Hesse*²⁵⁾ (1904), *W. M. Clark*²⁶⁾ (1915), *B. van Anthony* und *C. v. Ekroth*²⁷⁾ (1916) und *Mc Intosh* und *A. M. Smart*²⁸⁾ (1920). *Anthony* und *Eckroth* fanden in ihren Versuchen, daß die vollständige Hydrolyse von Fleischinfusionen (d. h. daß die Acidität der Flüssigkeit bei weiterem Erwärmen nicht vergrößert wird) erst nach 8stündlichem Erhitzen im Autoklaven bei einem Druck auf 7,5 kg erreicht wurde. *Clark* untersuchte die Bedeutung des Erwärmens für p_H in Lösungen von Pepton Witte mit oder ohne Kohlenhydraten, und gibt die größte Abnahme des p_H zu 0,36 an. In Bouillon fiel das p_H beim Sterilisieren im Autoklaven in einem Falle von 7,19 bis 6,70 und in einem anderen von 8,52 bis 7,72, der Verfasser gibt aber keine Temperatur, Erwärmungszeit und keinen Druck an. Die Untersuchungen von *Mc Intosh* und *Smart* sind viel ausgedehnter und an vielen Punkten interessant. Sie finden, daß gewöhnliche Bouillon (ohne Zuckerzusatz) durch dreimalige Dampfsterilisation bei 100° in 20 Min. 0,13 im p_H fällt, während eine dreimalige Sterilisation im Autoklaven bei 115° in 20 Min. das p_H mit 0,38 *) herabsetzt. Die Verff. haben 6 Versuche mit verschiedenen Bouillonen ausgeführt; berechnet man die Durchschnittswerte der gefundenen Zahlen, erhält man die untenstehenden Änderungen im p_H .

	1 mal	2 mal	3 mal
Dampfsterilisieren	0,02	0,085	0,14
Stabilisation im Autoklaven	0,08	0,25	0,38

Diese Durchschnittswerte sehen sehr bestechend aus, dürfen aber keineswegs als absolute Werte betrachtet werden, denn teils ist die Anzahl der Versuche eine geringe, teils sind die Variationen innerhalb der Versuchsreihen in mehreren Fällen außerordentlich groß; in den Versuchen mit dreimaligem Erhitzen im Autoklaven ist somit der geringste Unterschied im p_H 0,04, der größte 1,08. Diese Versuche beziehen sich außerdem auf eine sich völlig anormal verhaltende Bouillon, deren p_H nach dem Erwärmen etwas größer geworden ist — ein Verhalten, welches weder von mir noch, so viel ich weiß, von anderen beobachtet worden ist **). Die Verff. haben zugleich dieses Verhalten in einer mit 1% Glucose versetzten Bouillon, aber nur in einem einzelnen Versuche, untersucht; es zeigt sich hier, daß ein dreimaliges Dampfsterilisieren das p_H mit 0,17 herabsetzt, während dreimaliges Sterilisieren im Autoklaven eine Abnahme des p_H auf 1,09 veranlaßt (nicht wie in der Abhandlung angeführt: 1,12). Dieser Versuch sagt sehr wenig, weil — wie angeführt — das p_H in einer gewöhnlichen Bouillon ohne Zuckerzusatz nach dreimaligem Erhitzen im Autoklaven 1,08 fiel. Es ist indessen unzweifelhaft, daß eine zuckerhaltige Bouillon beim Erwärmen mehr sauer reagierende Produkte als eine zuckerfreie bilden kann. Die Verff. geben als Resultat ihrer Untersuchungen u. a. an, daß drei Dampfsterilisationen nie so zerstörend wie eine Sterilisation im

*) In der Abhandlung wird 0,23 angegeben, was auf einen fehlerhaften Ausrechnen der Durchschnittszahl beruht.

**) In einer neuen Arbeit von *W. M. Bunker*²⁹⁾ wird hervorgehoben, daß das p_H der Bouillon beim Erhitzen im Autoklav immer kleiner wird.

Autoklaven sind; es ist möglich, daß dies mit Bezug auf den Wert des Nährbodens im allgemeinen richtig ist, bezüglich der Änderungen der Wasserstoffionenkonzentrationen aber ist diese Behauptung den eigenen Versuchen der Verff. zufolge keineswegs korrekt. Die Durchschnittszahl der 6 Versuche mit dreimaliger Dampfsterilisation ist 0,13, und der 5 Versuche mit einmaliger Erhitzung unter Druck (der Versuch mit der Bouillon, die bei Erwärmen alkalischer wird, lasse ich außer Betracht) 0,14; demzufolge sollten die Wirkungen der drei Dampfsterilisationen à 20 Minuten ungefähr dieselbe sein, wie von einer einmaligen Sterilisation im Autoklaven in 20 Minuten; die Variationen innerhalb der Versuche sind aber so groß (geringste Änderung im p_H bei einer Sterilisation unter Druck 0,09 und größte Änderung im p_H bei drei Dampfsterilisationen 0,47), daß die Durchschnittszahlen kaum als allgemeingültig betrachtet werden können.

In einer Arbeit von *Foster und Randall*⁴⁵⁾ erwähnen die Verfasser ihre Erfahrungen auf diesem Gebiete; sie finden, daß die Änderungen im p_H beim Autoklavieren am größten in den alkalischen Bouillons sind (7,8—9,0), in den sauren kleiner (5,0—6,2) und in der Neutralzone außerordentlich gering (6,6—7,4); die größte beobachtete Änderung des p_H war 0,4 und sie war selten größer als 0,2 (Druck: 7,5 kg, Zeit 15 Min.). Die Verff. führen zugleich an, daß diese Änderungen so gut wie immer eine Zunahme der Acidität bewirken; in vereinzelten Fällen stellte sich das entgegengesetzte Verhalten ein, was sie einer Alkaliabgabe seitens der Glaswand zuschreiben (5 cm in einem Reagensglase). Soeben haben *Dernby und David*⁴⁶⁾ in einer Arbeit über die Bildung von Diphtherietoxin die Änderung der Bouillonreaktion beim Erhitzen im Autoklaven erwähnt; sie finden, daß p_H nach dem Erwärmen größer ist als vor demselben. Diese Erscheinung schreiben die Verff. einem Kohlensäureverlust während des Erhitzens zu (das zur Bouillon verwendete Fleisch war vorher mittels Hefe vergoren worden).

Um zu untersuchen, welchen Einfluß das Sterilisieren im Autoklaven auf diese Verhältnisse ausübt, habe ich einige Versuchsserien angestellt, welche in den Hauptzügen recht übereinstimmende Resultate ergeben haben, und aus welchen in der Tabelle XXVII eine einzelne wiedergegeben ist. Beim Mischen von gewöhnlicher Peptonbouillon (50% Fleisch, 1,5% Pepton Witte und 0,5% NaCl) mit HCl oder NaOH wurden Bouillons mit verschiedener Wasserstoffionenkonzentration hergestellt. Diese Mischungen wurden 30 Minuten bei 115° unter Druck erhitzt und das p_H sowohl vor als nach dieser Behandlung bei 18° colorimetrisch gemessen.

Aus diesen Versuchen, deren Ergebnisse mit den Resultaten *Foster und Randalls* nicht völlig zusammenfallen, geht hervor, daß die Änderung des p_H beim Erwärmen für die Mischungen mit der größten Alkalinität am größten ist, um darnach mit abnehmender Alkalinität wieder bis zu $p_H = ca. 5$ abzunehmen. In dieser Bouillon mit niedrigerem p_H wird durch Sterilisation im Autoklaven ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 115°) keine Verschiebung der Wasserstoffionenkonzentration hervorgerufen.

Tabelle XXVII.

1000 cem Bouillon + HCl oder NaOH + 0,9% NaCl zu 1000 cem	p_{H}		Unterschied in p_{H}
	vor Autoklav.	nach Autoklav.	
30 $\frac{5}{10}$ -HCl	1,42	1,42	0
20 „	2,40	2,40	0
10 „	3,60	3,60	0
4 „	4,83	4,83	0
2 „	5,70	5,60	0,10
4 $\frac{5}{10}$ -NaCH	7,40	7,00	0,40
6 „	8,00	7,45	0,55
10 „	9,15	8,35	0,80
20 „	12,10	10,10	2,00
30 „	12,70	10,40	2,30

Es ist richtig, daß die durch die Behandlung im Autoklaven verursachte Änderung des p_{H} in Peptonbouillon mit gewöhnlicher Alkalinität (p_{H} 7,5—8,0) in der weit überwiegenden Mehrzahl von Fällen etwa 0,3—0,5 im p_{H} ausmacht, aber nach meinen Untersuchungen und ebenfalls nach denen anderer Forscher *kann* die Verschiebung in einzelnen Fällen größer sein, *weshalb man einen Nährboden erst nach Untersuchung seiner Wasserstoffionenkonzentration nach der Behandlung im Autoklaven verwenden darf*, eventuell nach Korrektur dieser durch Zusatz von sauren oder basischen Stoffen.

Übrigens war es schon allgemein bekannt, daß starkes Erhitzen dieser Substrate ihren Wert als Nährböden für Mikroben herabsetzen kann, dagegen war die Aufmerksamkeit nicht genügend darauf gelenkt, daß diese Verschlechterung nicht allein das Wachstum der Mikroben, sondern auch die Toxinbildung berührt. Wie es indessen aus meinen später mitzuteilenden Untersuchungen über das Diphtheriegift hervorgeht, scheint dieses Verhältnis jedenfalls für die Bildung dieses Toxins eine Rolle zu spielen.

Um die Bedeutung des Autoklavierens für die Bildung des Staphylolysins zu untersuchen, habe ich einige Versuchsserien teils mit einer vor dem Erwärmen alkalisierten Bouillon, teils mit einer bei ihrer normalen Acidität erhitzten, ausgeführt. Mit jeder Art wurden Sterilisierungsversuche bzw. durch dreimaliges halbstündiges Erwärmen auf 100°, bei 115° in 10 Minuten oder 2 Stunden im Autoklaven ausgeführt. Die Versuche ergaben einigermaßen übereinstimmende Resultate; als Beispiel wird der untenstehende Versuch angeführt (Tabelle XXVIII).

Es sei bemerkt, daß in sämtlichen Mischungen das p_{H} nach dem Sterilisationsprozeß auf 7,20 (mittels sterilisierter Milchsäure oder calcinierter Soda) gebracht wurde. Die in der Tabelle angeführten Zahlen bezeichnen den Inhalt von Lysineinheiten pro Kubikzentimeter Kultur. *Nach diesen Versuchen scheint die Dauer der Erwärmungsperiode und die Temperatur keine stark hervortretende Rolle zu spielen; sämtliche*

Tabelle XXVIII.

	Vor dem Erhitzen alkalisiert 38 g/l-NaOH zu 1 l Bouillon			Nach dem Erhitzen mit calc. Soda alkalisiert		
	3 x 1/2 Stun- den bei 100°	10 Minuten bei 115°	2 Stunden bei 115°	3 x 1/2 Stun- den bei 100°	10 Minuten bei 115°	2 Stunden bei 115°
<i>p_H</i> vor und nach Erhitzen	7,90 7,65	7,90 7,45	7,90 6,95	6,15 6,10	6,15 5,95	6,15 5,90
24 Stunden	125	154	56	200	154	125
2 Tage	167	200	100	270	200	143
4 "	238	270	110	333	294	222
6 "	167	238	83	250	213	200
10 "	118	154	50	222	208	133
17 "	67	100	40	110	100	50

Versuche zeigen jedoch, daß eine Sterilisierung in saurem Nährboden mit darauffolgender Alkalinisierung das stärkste Toxin gibt; ebenfalls ist es unzweifelhaft, daß lange andauerndes Erhitzen im Autoklaven den Wert des Nährbodens verringert.

e) Die Bedeutung verschiedener Metallsalze (Katalysatoren).

In den oben mitgeteilten Untersuchungen habe ich gefunden, daß Magnesiumsulfat in den verwendeten Nährböden für die Staphylolysinbildung von großer Bedeutung ist, da in sämtlichen Kulturen, in denen dieses Salz vorhanden war, sich Hämolysinbildung einstellte. Es ist bekannt, daß das Vorhandensein verschiedener anorganischer Salze für die Wachstumsverhältnisse der Mikroben von außerordentlicher Bedeutung sein kann, dagegen ist es früher nicht untersucht worden, ob solche Metallsalze irgendeinen Einfluß auf das Toxinbildungsvermögen der Bakterien ausüben können.

Die Bedeutung des Vorhandenseins von Mineralstoffen für die Entwicklung der Mikroben wurde erst von Raulin³⁰⁾ untersucht, welcher seine Versuche mit Schimmelpilzen anstellte, und einen großen Einfluß u. a. von Kieselsäure, Eisensalzen und besonders von Zinksalzen beobachtete. Biernacki³¹⁾ zeigte, daß mehrere Desinfektionsmittel wie Sublimat und Kupfersulfat in sehr starken Verdünnungen eine nicht unerhebliche Reizung auf Wachstum und Gärungsvermögen der Hefezellen ausübten. Daß sehr geringe Mengen von Sublimat die Gärungen der Colibacillen günstig beeinflussen, wurde von Hüne³²⁾ gezeigt. Bertrand und Javillier³³⁾ haben durch ihre Versuche festgestellt, daß Zusatz von Zn oder Mn zu Kulturen von *Aspergillus niger* das Wachstum fördert, und daß die Wirkung noch besser wird, wenn beide Metallsalze zugegen sind. Diese Beobachtungen wurden später von Bertrand erweitert, indem er fand, daß sogar ganz minimale Mengen von Mn genügen, um das Wachstum des *Aspergillus* zu verstärken (0,001 g Mn in 10000 l Nährboden übt eine deutliche Wirkung aus). Findet sich in der Kultur kein Mn, so vermag der Pilz keine Conidien zu bilden; es wurde ferner gefunden, daß ein bestimmtes Gleichgewicht zwischen Fe, Mn und Zn nötig ist, um den normalen physiologischen Zustand in der Pflanze zu bewahren, indem diese eine hoch entwickelte Empfindlichkeit gegenüber den kleinsten Verschiebungen dieser Verhältnisse besitzt.

Von Untersuchungen dieser Art sind in der Zwischenzeit mehrere erschienen, welche alle zeigen, daß selbst große Änderungen in den Lebensäußerungen der Mikroben ihren Grund in ganz minimalen Änderungen in Natur und Menge der vorhandenen Metallsalze haben können. Jüngst haben *Antonín Němec* und *Vačlav Kás*³⁵⁾ die Bedeutung des Selen für die Entwicklung von *Penicillium* untersucht, und u. a. gefunden, daß äußerst kleine Dosen von selsaurem Natron die Ernteaussbeute des Pilzes selbst bei Anwesenheit von Zn und Mn erhöhen können.

Es ist oft beobachtet worden, daß diese Metallsalze außer auf das Wachstum zugleich auf die übrigen Lebensäußerungen der Mikroben eine fördernde Wirkung ausüben können. Ich erinnere hier nur an die ältesten Untersuchungen von *Richet*³⁶⁾ und *Duclaux*³⁷⁾, welche zeigten, daß Sublimat oder Kupfersulfat noch in einer Verdünnung 1—2000000 in Kulturen von Milchsäurebakterien die Milchsäurebildung fördern, ferner an die Versuche von *Bertrand* und *Sazerac*³⁸⁾ mit *Mycoderma aceti*; die Verff. zeigten, daß die Fähigkeit der Mikroben, Alkohol in Essigsäure umzubilden, viel stärker durch Zusatz einer geringen Menge Mn wurde, indem das Mangan hier wie bei den höheren Pflanzen sich im Besitze oxydasefördernder Eigenschaften erzeigte. Die Wirkung nahm mit der Menge bis zu einem Maximum (1—40000) proportional zu, um darnach wieder abzunehmen.

In der letzten Zeit hat *Ichiro Otsuka*³⁹⁾ den Einfluß verschiedener Metallsalze auf die Bildung von bakteriellen Spaltprodukten aus Aminosäuren untersucht. Der Verfasser untersuchte das Spaltungsvermögen des *Proteus* auf l-Tyrosin bei Vorhandensein verschiedener Metallsalze und fand, daß Ferrosulfat, Uranylphosphat und besonders Aluminiumphosphat stark fördernd wirkten.

Wenn man an den großen entweder fördernden oder hemmenden Einfluß denkt, welchen verschiedene Metallsalze auf die Wirkung von sehr vielen Enzymen ausüben können, und sich gleichzeitig erinnert, welche außerordentlich große Rolle die enzymatischen Prozesse in allen Arten des Zellebens spielen, kann man sich von dem Gedanken nicht befreien, daß die Wirkungen der verschiedenen Metallsalze auf die Mikroben und ihre Lebensäußerungen zum großen Teil auf der *katalytischen* Einwirkung dieser Salze auf die inner- oder außerhalb der Zellen sich während der Entwicklung der Kulturen abspielenden Prozessen von enzymatischer oder ähnlicher Natur beruht. Wie erwähnt, können diese Katalysatoren je nach ihrer Art oder Konzentration entweder als Aktivatoren oder als Paralysatoren (negative Katalyse) auftreten, und in der Bakterienzelle wie in jeder anderen Zelle spielen solche Stoffe sicher eine ganz hervorragende Rolle, ja, man darf fast sagen, daß kaum eine Lebensäußerung ohne gegenseitigen regulierenden Eingriff solcher aktivierenden oder inaktivierenden Faktoren möglich ist, und die Anschauung, daß diese Wirkungen chemischen Stoffen zugeschrieben werden müssen, findet allmählich neue Anhänger. Falls die Sache sich so verhält, versteht man, wie eine Zufuhr von fremden Metallsalzen zu einer sich entwickelnden Bakterienkultur in dem so fein abgestimmten Zusammenspielen störend eingreifen, und Ausschläge verschiedener Art und Tragweite schaffen kann.

Meine oben erwähnte Beobachtung betreffs des Förderungsvermögens von Magnesium auf die Staphylolysinbildung gab den Anstoß

dazu, daß ich die Frage über die Bedeutung der Metalle für die Toxinbildung einer näheren Untersuchung unterwarf, und es stellte sich bald heraus, daß hier ein sehr großes und bisher völlig unangebautes Arbeitsgebiet vorlag.

Für Versuche dieser Art wird es passend sein, Peptonbouillon als den sowohl für das Wachstum der Bakterien als für die Toxinbildung erfahrungsgemäß am besten geeigneten Nährboden zu verwenden, es wird aber dann notwendig sein, vorerst sowohl die Art der in der Peptonbouillon vorhandenen Metallverbindungen, als die während des Sterilisationsprozesses von den Glaskolben abgegebenen, festzustellen, damit keine Fehlschlüsse aus den Wirkungen (oder ausbleibenden Wirkungen) zugesetzter Salze gezogen werden mögen, weshalb ich die untenstehenden Bouillonbestandteile einer Untersuchung unterworfen habe: 1. Extrakt aus Kalbfleisch, 2. verschiedene käufliche Peptonpräparate und schließlich 3. alkalisches Wasser, nach starkem Erhitzen in Glaskolben.

Metalle in Kalbfleischauszug. Drei Proben von Kalbfleisch (jede auf 1 kg) wurden an verschiedenen Zeitpunkten und an verschiedenen Stellen eingekauft und einigemal mit Wasser ausgekocht. Zur Extraktion wurde Kopenhagener Leitungswasser verwendet, weil dies auch sonst bei der praktischen Darstellung der verschiedenen Bouillonnährböden zur Verwendung kam. Die Auszüge wurden zum Trocknen in einer Quarzschale eingengt und zwar erst auf Wasserbad und später im Trockenschrank bei 140°. Diese getrocknete Masse wurde darnach in einer Silberschale mit Natron und Salpeter geschmolzen und nach Lösen, in üblicher Weise analysiert. Ein kleiner Teil des getrockneten Auszuges wurde durch Glühen (mit wenig Ammoniumnitrat) für die Proben auf Kalium und Natrium in einem Platintiegel verascht. Es wurde in der Analyse auf folgende Elemente gefahndet: Ag, Hg, Pb, Cu, Bi, Cd, As, Sb, Sn, Ni, Co, Fe, Mn, Al, Cr, Ba, Sr, Ca, Mg, K und Na. In sämtlichen drei Fleischproben wurden die untenstehenden Metalle nachgewiesen:

Fe, Al, Ca, Mg, K und Na.

Mg wurde jedoch nur in geringer Menge gefunden.

Metalle im Pepton: Es wurde untersucht: 1. *Pepton-Witte*, 2. *Pepton-Chapoteaut*, 3. *Pepton-Chassaing* und 4. *Pepton-Parke, Davis og Co.* Von jedem Präparate wurden 20 g mit Natron und Salpeter in einer Silberschale geschmolzen, gelöst und wie gewöhnlich analysiert. Untenstehende Metalle wurden nachgewiesen.

Der Glaswand entstammende Metalle: 101 destilliertes Wasser, worin 4 g reines Natronhydrat gelöst worden waren (d. h. etwa 0,01 n.-NaOH), wurden auf 10 in gewöhnlicher Weise sorgfältig gereinigte etwa 1,5 l fassende Erlenmeyerkolben (schwedisches Fabrikat) verteilt, von diesen waren 5 neu und 5 mehrmals verwendet worden; sämtliche 10 Kolben

	Witte	Chapoteaut	Chassaing	Parke, Davis & Co.
Fe	+	+	+	+
Pb	Spuren	Spuren	0	Spuren
Ca	+	+	0	+
Mg	+	+	0	+
K	0	+	Spuren	+
Na	+	+	+	+

wurden in üblicher Weise mit Wattestöpsel geschlossen und mit Papier überbunden, um darnach 2 Stunden bei 115° im Autoklaven erhitzt zu werden. Nach Abkühlung wurde die Lösung mittels verdünnter Salzsäure schwach angesäuert und auf einem Sandbad in einer Quarzschale eingedampft. Es gelang im Rückstand folgende Metalle nachzuweisen:

Fe, Al, Ba, Ca, Mg und K.

Magnesium wurde jedoch nur in sehr geringer Menge gefunden.

Bevor ich zur Untersuchung der Bedeutung der verschiedenen Metalle für die Staphylolysinbildung überging, unternahm ich einige orientierende Versuche mit Magnesium, welches, wie oben gezeigt, im Besitz stark fördernder Eigenschaften ist.

Vorerst muß man sich klar machen, ob das Hinzufügen eines derartigen Metallsalzes *tatsächlich* auf das Lysinbildungsvermögen der Mikroben fördernd wirkt, sei es daß diese Prozesse intra- oder extracellular oder vielleicht sowohl intra- als extracellular vor sich gehen, oder ob die Metallionen nur auf die zur Untersuchung verwendeten Blutkörperchen durch Erhöhen der Giftempfindlichkeit derselben wirken. Um dies zu untersuchen, wurde eine Reihe von Bouillonon mit bekanntem Mg-Inhalt zubereitet, welche nach Impfen und passendem Erwärmen im Thermostaten auf Hämolysininhalt untersucht wurden; ferner wurde untersucht, wie kleine Mg-Mengen genügten, um eine Vergrößerung der Wirkung in einer Mischung von einem fertiggestellten und filtrierten Lysin und Blutkörperchen hervorzurufen. Die Resultate dieser Versuche könnten eventuell Aufschlüsse über den Charakter dieser Verhältnisse geben.

Es wurde eine Bouillon hergestellt, die von Magnesium völlig befreit worden war, was sich leicht ausführen läßt. Zur gewöhnlichen alkalischen Peptonbouillon wurden 10% Ammoniakwasser (25 prozentiges) getan, die Mischung auf etwa 50° erwärmt und im Thermostaten bei 37° bis zum nächsten Tage aufbewahrt; hierdurch wurde das gesamte Magnesium als Magnesiumammoniumphosphat ausgefällt (im Filtrate sind reichliche Phosphatmengen vorhanden). Die Lösung wurde filtriert und auf dem Wasserbad bis zu fast völligem Verschwinden des Ammoniakgeruches stark eingeeengt, darnach mit destilliertem Wasser zum ursprünglichen Volumen aufgefüllt, wobei die Wasserstoffionenkonzen-

tration natürlich — falls es nötig ist — reguliert wird. Von dieser magnesiumfreien Bouillon wurden Mischungen mit Lösungen von Magnesiumsulfat hergestellt, diese Mischungen wie gewöhnlich sterilisiert, geimpft und nach 6 Tagen aus dem Thermostaten herausgenommen, wonach der Hämolysegehalt festgestellt wurde.

Das Resultat ist in der Tabelle XXIX angeführt.

Tabelle XXIX.

ccm molarer Lösung von MgSO_4 in 1000 Bouillon	Wachstum	Lysineinheiten pro ccm Kultur
100	+++	143
50	+++	143
10	+++	143
5	+++	143
1	+++	143
0,5	+++	125
0,1	+++	80
0,05	+++	25
0,01	++	< 1
0,005	++	< 1
0,001	++	< 1
0	++	< 1

Wie aus diesem Versuche hervorgeht, wird in *magnesiumfreier Bouillon kein Staphylolysin gebildet*, erst bei einem Gehalt von ca. 0,05 Mol. MgSO_4 in 1 l Bouillon werden deutliche Mengen gebildet, und Maximum wird erst dann erreicht, wenn der Inhalt von molarer Lösung bis 1 ccm pro Liter gestiegen ist; *ein Vorhandensein noch größerer Mengen von Magnesiumsalz übt keinen weiteren Einfluß auf die Lysinbildung aus*. Derartige Versuche sind mehrmals wiederholt worden, und immer mit fast demselben Resultat; es ist jedoch kein konstantes Phänomen, daß die Lysinbildung in der vollständig magnesiumfreien Bouillon ausbleibt. Ferner geht aus den Versuchen hervor, daß MgSO_4 in passender Konzentration auch eine wachstumsfördernde Wirkung auf die Staphylokokken ausübt.

Es muß jetzt weiter untersucht werden, ob MgSO_4 die Wirkung eines filtrierten Lysins auf Ziegenblutkörperchen verstärkt. Aus gewaschenen Ziegenblutkörperchen und einer molaren Lösung von MgSO_4 wurden die in der beigelegten Tabelle XXX angegebenen Mischungen so hergestellt, daß in sämtlichen Mischungen 5 ccm 2proz. Aufschwemmung von Ziegenblutkörperchen (mit 0,5% Ziegen Serum als Puffer) vorhanden waren. Zu Reagensglasserien mit den verschiedenen Blutkörperchen-Magnesiummischungen wurden absteigende Dosen von dem filtrierten Staphylolysin getan, und die Lysinmengen, welche in den verschiedenen Blutmischungen denselben Hämolysegrad (20%) ergaben, in gewöhnlicher Weise festgestellt.

Tabelle XXX.

ccm molarer Lösung von MgSO ₄ in 100 ccm Blut	die Lysinmenge, welche 20% Hämolyse ergab	reziproke Werte
0	0,025	40
0,01	0,0075	133
0,03	0,0045	222
0,07	0,0037	270
0,1	0,0033	303
0,3	0,003	333
0,7	0,0027	370
1,0	0,003	333
2,0	0,0032	313
5,0	0,015	66,7
10,0	0,07	14,3

Diesem und anderen übereinstimmenden Versuchen zufolge besitzt das Magnesiumsulfat einen beträchtlich fördernden Einfluß auf die Wirkung eines filtrierten Staphylolysins auf Blutkörperchen; diese Wirkung nimmt mit steigendem MgSO₄-Inhalt bis zu einem gewissen Punkt zu, um danach wieder abzuklingen.

Aus der Tabelle XXX wird man ersehen, daß in den 5 ccm Blut-aufschwemmung wenigstens etwa 0,00025 ccm molarer MgSO₄-Lösung vorhanden sein muß, um eine wesentliche Vermehrung der Lysinwirkung hervorzurufen. Entnehmen wir der Tabelle XXIX das Beispiel mit 0,05% molarer MgSO₄ in der Bouillon, welche ein Lysin hervorgebracht hatte, von dem 0,04 ccm 20% Hämolyse ergab (d. h. 25 Lysineinheiten pro Kubikzentimeter), so zeigt eine einfache Rechnung, daß mit diesen 0,04 ccm Lysin zur Blutaufschwemmung nur 0,000002 ccm molarer MgSO₄ eingeführt worden sind, was somit etwa 100 mal weniger als die für eine Vermehrung der Hämolyse in der Mischung von Lysin und Blutkörperchen erforderliche Menge ist. Deshalb dürfen wir hieraus den Schluß ziehen, daß Magnesiumsulfat die Fähigkeit besitzt, die Staphylokokken zu größerer Giftproduktion während des Wachstums anzuregen.

Die Einwirkung anderer Metalle auf die Staphylolysinbildung. Zu diesen Untersuchungen wurde eine magnesium- und calciumfreie Bouillon verwendet. Es wurden zu 100 ccm dieser Bouillon die in der Tabelle XXXI angeführten Mengen der erwähnten Salzlösungen zugegeben, die Wasserstoffionenkonzentration des Nährbodens auf $p_H = 6,5$ gebracht, und sämtliche Mischungen nach Sterilisation im Autoklaven mit Staphylokokken geimpft; nach 6tägigem Aufenthalt im Thermostaten wurden die Kulturen herausgenommen und auf Hämolsininhalt untersucht. In der Tabelle ist neben jeder Salzlösung eine Doppelreihe von Zahlen angeführt; die obere gibt die Menge der betreffenden Salzlösungen an, mit welcher 100 ccm Bouillon versetzt worden ist; wenn

diese Menge (in der ersten Kolonne) kleiner als 2 ccm ist, bedeutet dies, daß eine wesentlich größere Menge als die angeführte die Entwicklung der Staphylokokken verhindert. Die untere Reihe Zahlen gibt die Anzahl von Lysineinheiten pro Kubikzentimeter der Kulturen an.

Tabelle XXXI.

LiCl	1 molar	{ 2,0	0,5	0,1	0,05	0,01	
		200	167	80	100	143	
CaCl ₂ · 6 H ₂ O	1 „	{ 0,3	0,1	0,05	0,01	0,005	
		--	--	80	120	143	
Sr(NO ₃) ₂	1 „	{ 0,25	0,1	0,05	0,01	0,005	
		10,5	16,7	118	244	167	
Ba(NO ₃) ₂	1/3 „	{ 0,5	0,1	0,05	0,01	0,005	
		200	250	167	143	143	
Pb(C ₂ H ₃ O ₂) ₂ · 3 H ₂ O . . .	1/2 „	{ 0,2	0,1	0,05	0,01	0,005	
		6,5	50	111	143	385	
BeCl ₂	1 „	{ 1,0	0,5	0,1	0,05	0,01	
		71,4	100	143	143	143	
MgSO ₄ · 7 H ₂ O	1 „	{ 5,0	2,0	0,5	0,1	0,05	
		500	500	476	370	250	
ZnSO ₄ · 7 H ₂ O	1 „	{ 0,06	0,03	0,01	0,005	0,001	
		200	200	200	174	143	
CdCl ₂ · 2 H ₂ O	1 „	{ 0,3	0,2	0,15	0,1	0,05	
		35,7	66,7	143	263	213	
CuSO ₄ · 5 H ₂ O	1 „	{ 0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	
		40	57,1	167	204	167	
NiCl ₂ · 6 H ₂ O	1 „	{ 0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	
		90,9	200	267	345	154	
Co(NO ₃) ₂ · 6 H ₂ O	1 „	{ 0,05	0,02	0,01	0,005	0,001	
		8	16,7	23,8	167	143	
FeCo ₃ · 6 H ₂ O	1 „	{ 0,5	0,25	0,1	0,05	0,01	
		3,3	43,5	66,7	58,8	80	
MnSO ₄ · 4 H ₂ O	1 „	{ 1,0	0,5	0,1	0,05	0,01	
		12,5	28,6	238	256	286	
CrCl ₂	1 „	{ 1,0	0,5	0,1	0,05	0,01	
		10,5	80	167	222	167	
Al ₂ (SO ₄) ₃ · 18 H ₂ O . . .	1/2 „	{ 2,0	1,0	0,5	0,1	0,05	
		33,3	143	200	200	200	
AgNO ₃	1/10 „	{ 1,0	0,5	0,1	0,05	0,01	
		10	25	50	167	250	
HgCl ₂	1/10 „	{ 0,2	0,1	0,05	0,01	0,005	
		143	143	167	143	143	
HCl · AuCl ₃ · 4 H ₂ O . . .	1/10 „	{ 2,0	1,0	0,5	0,1	0,05	
		20	50	125	278	333	
2 HCl · PtCl ₄ · 6 H ₂ O . .	1/10 „	{ 2,0	1,0	0,5	0,1	0,05	
		28,6	66,7	250	333	333	
Bi(NO ₃) ₃ · 5 H ₂ O	1/10 „	{ 0,2	0,1	0,05	0,01	0,005	
		28,6	100	250	167	200	
(SbO)KC ₄ H ₄ O ₆ · 1/2 K ₂ O	1/19 „	{ 2,0	1,0	0,5	0,1	0,05	
		12,5	12,5	25	111	250	
SnCl ₂ · 2 H ₂ O	1 „	{ 0,5	0,25	0,1	0,05	0,01	
		< 8,5	50	71,4	100	143	
Kontrolle		143					

Es sind 2 ziemlich gut übereinstimmende Versuche angeführt worden.

Aus diesen Versuchen ersieht man, daß das Vorhandensein der verschiedenen Metallsalze in irgendeiner passenden Konzentration in der Regel die Hämolysebildung in der einen oder der anderen Richtung beeinflusst. Daß die Konzentration eine sehr große Rolle für die Wirkung spielt, geht mit großer Deutlichkeit aus den einzelnen Versuchen hervor. Innerhalb der einzelnen Metallgruppen scheint keine Gleichmäßigkeit vorhanden zu sein. Besonders stark fördernd wirken die Salze des Mg, Ni, Mn, Au und Pt, es ist aber keineswegs ausgeschlossen, daß einzelne der anderen in kleineren Mengen als die zur Verwendung gebrachten eine nicht unbeträchtliche fördernde Wirkung ausüben würden. Ca wirkt in etwas größeren Dosen stark hemmend und hebt, von einem Gehalte von ca. 0,1% $\frac{1}{1}$ molarer Lösung an, jede Lysinbildung auf.

Um die Ergebnisse dieser Untersuchungen völlig beurteilen zu können, ist es, dem voranstehenden zufolge, durchaus notwendig, die Einwirkung der verschiedenen Metallsalze auf die Kombination Lysin-Blutkörperchen zu kennen, da es ja keineswegs ausgeschlossen ist, daß bei den Hämolysemessungen so große Mengen der verschiedenen Salze überführt werden können, daß die Empfindlichkeit der Blutkörperchen gegenüber dem Lysin in die eine oder die andere Richtung hin geändert werden kann.

Derartige Versuche wurden in der Weise ausgeführt, daß eine Reihe Mischungen 2 proz. Ziegenblutaufschwemmungen mit den verschiedenen Metallsalzlösungen dargestellt wurde, nachdem durch orientierende Untersuchungen festgestellt worden war, eine wie große Menge des betreffenden Metallsalzes sich verwenden läßt, ohne durch diese allein weder Hämolyse noch Agglutination noch Mißfärbung der roten Blutkörperchen hervorzurufen. Die in der Tabelle (Tabelle XXXII) angegebenen Mengen sind somit ungefähr die größten, keine wahrnehmbaren Veränderungen der Blutkörperchen hervorrufenden Mengen (für 5 ccm Blutkörperchenaufschwemmung berechnet). Es wurden jedoch nie mehr als 0,2 ccm verwendet, selbst wenn bedeutend größere Mengen auf die Blutkörperchen keine Einwirkung ausübten. Zu Reihen von Reagensgläsern mit den angeführten 5 Dosen von Staphylolysin wurden dann 5 ccm der betreffenden Metallsalz-Blutkörperchenmischungen getan und nach Schütteln 1 Stunde in ein Wasserbad gestellt. Darnach wurden die Mischungen wieder geschüttelt, in kaltem Wasser schnell abgekühlt ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 10°) und nachtsüber in den Kühlraum gestellt; am nächsten Tage wurde in gewöhnlicher Weise die Menge gelösten Hämoglobins in jedem Glase gemessen; die in der Tabelle angeführten Zahlen geben die Menge des gelösten Hämoglobins in Prozenten an.

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß einerseits Co, Mg, Mn und Ni die Empfindlichkeit der Blutkörperchen gegenüber dem Staphylolysin

Tabelle XXXII.

		ccm zu 5 ccm Blutkörperchen- aufschwemmung	0,07 Lysin	0,05 Lysin	0,04 Lysin	0,03 Lysin	0,02 Lysin
Li	1 molar	0,2	80	40	30	12	0
Ca	1 "	0,2	0	0	0	0	0
Sr	1 "	0,2	0	0	0	0	0
Ba	$\frac{1}{3}$ "	0,2	80	7	1	0	0
Pb	$\frac{1}{2}$ "	0,0003	40	20	0	0	0
Be	1 "	0,0003	9	2	0	0	0
Mg	1 "	0,2	100	100	100	100	100
Zn	1 "	0,0003	100	100	80	40	8
Cd	1 "	0,005	100	90	80	25	9
Cu	1 "	0,0005	30	9	0	0	0
Ni	1 "	0,015	100	100	100	100	100
Co	1 "	0,005	100	100	100	100	100
Fe	1 "	0,00004	70	14	6	0	0
Mn	1 "	0,2	100	100	100	100	100
Cr	1 "	0,00004	2	0	0	0	0
Al	$\frac{1}{2}$ "	0,001	12	10	0	0	0
Ag	$\frac{1}{10}$ "	0,0005	100	70	18	16	0
Hg	$\frac{1}{10}$ "	0,0001	80	30	20	3	0
Au	$\frac{1}{10}$ "	0,00004	90	40	9	0	0
Pt	$\frac{1}{10}$ "	0,015	100	100	80	25	3
Bi	$\frac{1}{10}$ "	0,01	7	2	0	0	0
Sb	$\frac{1}{10}$ "	0,2	3	1	0	0	0
Sn	$\frac{1}{10}$ "	0,001	80	45	20	3	1
Kontroll-Blut ohne Metallsalz			90	50	16	4	0

beträchtlich erhöhen, andererseits besonders von Ca und Sr aber auch von Be, Cr, Al, Bi und Sb die entgegengesetzte Wirkung*) ausgeübt wird; inwiefern es sich hier um eine Änderung der Empfindlichkeit der Blutkörperchen oder um Änderungen in der Natur des Staphylolysin selbst handelt, müssen künftige Untersuchungen lehren.

Um die in der Tabelle XXXI angeführten Ergebnisse beurteilen zu können, ist es jedoch erforderlich, die Wirkungsgrenzen dieser „Aktivatoren“ und Paralysatoren näher kennen zu lernen, um mit Sicherheit zu wissen, ob die mit den kleinen Kulturmengen in die Blutkörperchenaufschwemmung übergeführten Quantitäten von Metallsalzen irgendeine Einwirkung ausüben können. In der beigefügten Tabelle XXXIII habe ich die Resultate einiger Versuche mit Mg, Mn und Ni angeführt, welche auf völlig dieselbe Weise wie die an der Tabelle XXX ausgeführt worden sind.

In der Tabelle XXXIV sind die Resultate völlig entsprechender Versuche mit einzelnen der am stärksten wirkenden „Paralysatoren“ Ca und Sr ausgeführt.

*) In einer soeben veröffentlichten Arbeit von Purdy und Walbum⁴⁷⁾ haben wir die Einwirkung verschiedener Salze auf Saponin-Pferdeblutkörperchen und Komplement-Amboceptor-Hammelblutkörperchen untersucht.

Tabelle XXXIII.

ccm molarer Lösung in 100 ccm Blut	MgSO ₄ 7 H ₂ O	MnSO ₄ 4 H ₂ O	NiCl ₂ 6 H ₂ O
0	25	25	25
0,001	30	30	25
0,003	40	37	30
0,007	62	50	40
0,01	80	62	50

Die Zahlen = den reziproken Werten der Lysinmengen, welche 20% Hämolyse ergaben (siehe Tabelle XXX).

In der Tabelle XXXIII wurde die Austitrierung mit größerer Genauigkeit als in der Tabelle XXX vorgenommen, und es stellte sich heraus, daß schon 0,00005 ccm molarer MgSO₄-Lösung in 5 ccm Blut eine meßbare Verstärkung verursacht; diese Menge ist jedoch ca. 25 mal größer als die bei der hämolytischen Messung überführte.

Tabelle XXXIV.

ccm Lösung in 100 ccm Blut	CaCl ₂ $\frac{1}{1}$ mol.	Sr(NO ₃) ₂ $\frac{1}{1}$ mol.
1,0	0	0
0,4	0	15
0,2	0	40
0,1	45	80
0,04	65	80
0,02	80	80
0,01	80	80
0,006	80	80
0,004	80	80
0,002	80	80
0,0008	80	80
0,0006	80	80
0,0004	80	80
0	80	80

Ausgedehnte Wachstumsversuche würden mit MnSO₄, NiCl₂, CaCl₂ und Sr (NO₃)₂ in derselben Weise wie die Versuche mit MgSO₄ (Tab. XXIX) ausgeführt, und es hat sich gezeigt, daß die Quantitäten von MnSO₄ und NiCl₂, welche während des Wachstums die Lysinbildung fördern, so gering sind, daß die bei den hämolytischen Messungen überführten Mengen beziehungsweise ca. 50 und ca. 400 mal kleiner sind als die, welche imstande sind die Wirkung des Lysins auf die Blutkörperchen zu vergrößern. Es ging ferner aus den Versuchen hervor, daß die Mengen von CaCl₂ und Sr (NO₃)₂, welche auf die Hämolysebildung hemmend wirken, so gering sind, daß bei den Messungen ca. 1500—2500 mal weniger von diesen Salzen als nötig überführt werden, um eine Hemmung der Lysinwirkung auf die Blutkörperchen hervorzurufen.

Wir dürfen somit hieraus schließen, daß das Vorhandensein dieser verschiedenen Salze in den Kulturen während des Wachstums der Staphylokokken in beträchtlichem Grade die Bildung des Staphylolynsins zu beeinflussen vermögen.

Betrachten wir, welche Metalle im Fleischextrakt und Pepton vorhanden sind, und welche von den Glaskolben während des Sterilisationsprozesses abgegeben werden, und vergegenwärtigen uns gleichzeitig, daß unter diesen Repräsentanten die am stärksten wirkenden „Aktivatoren“ und „Paralysatoren“ sich finden, darf mit hoher Wahrscheinlichkeit angenommen werden, daß einige der Ursachen der großen — trotz aller Gleichmäßigkeit in der Behandlungsweise — bei der Toxinbildung so oft beobachteten Variationen, in diesen Verhältnissen zu suchen sind.

In einer früher veröffentlichten Arbeit (1909) über die Staphylolysinbildung habe ich gezeigt, daß eine Lösung von Pepton Witte durch Mischen mit einer hämolytischen Staphylokokkenkultur oder mit einem hämolytischen Filtrate, die hämolytische Wirkung dieser in sehr beträchtlichem Grade vermehrt; eine ähnliche Wirkung — obwohl in weniger ausgesprochenem Grade — übte die Peptonlösung auf Kulturen von *Bacillus tetani*, *Bac. megatherium*, *Vibrio Nasik* und *Vibrio el Tor* aus, und filtrierte Diphtherie- und Tetanustoxine wurden sogar auch in merkbarem Grade durch den Peptonzusatz verstärkt. Diese Beobachtungen mit dem übrigen Versuchsmaterial zusammen veranlaßten mich, die Hypothese aufzustellen, daß das Staphylolysin (und in gleicher Weise die übrigen Bakteriengifte) von den Staphylokokken als ein unwirksames „Prolysin“ („Protoxin“) sezerniert und außerhalb der Zellen vom Pepton Witte aktiviert wird. Da gewöhnlich angenommen wird, daß die Toxine in fertigem Zustande als primäre Sekretionsprodukte sezerniert werden, wäre eigentlich zu erwarten, daß andere sich dazu veranlaßt gefunden hätten, diese Beobachtungen durchzuprüfen und weiter auszubauen; dies geschah indessen nicht, und ich selbst hatte in der seither verflossenen Zeit keine Gelegenheit gehabt, diese Versuche fortzusetzen.

Die neueren Beobachtungen über die Einwirkung kleiner Metallsalzmengen auf den hämolytischen Prozeß erinnern mich an diese alten Versuche, da es vielleicht keineswegs ausgeschlossen wäre, daß dieses Aktivierungsvermögen des Peptons in den anorganischen Bestandteilen dieses Präparats zu suchen ist; besonders ließe es sich denken, daß der Magnesiuminhalt in dieser Beziehung wirksam ist. Beim Analysieren einer Probe von Pepton Witte habe ich 0,00289% Mg gefunden, welche Menge aber gar zu klein ist, um irgendeine Einwirkung ausüben zu können. Indessen ist es keineswegs ausgeschlossen, daß das in den Untersuchungen von 1907—1909 zur Verwendung gekommene Pepton einen größeren Magnesiumgehalt hatte; es wäre auch denkbar, daß

dieses Metall im Pepton Witte in einer besonders wirksamen Verbindung vorkommt. Ob dieses Aktivierungsvermögen dem Magnesium oder anderen der anorganischen Bestandteile des Pepton Witte zugeschrieben werden kann, muß in künftigen Untersuchungen entschieden werden.

C. Verschiedene andere Änderungen in der Bouillon während des Wachstums.

Wie wir aus dem Vorausgehenden ersehen haben, gehen in einer Staphylokokkenkultur während des Wachstums mehrere Änderungen vor sich, von denen wir besonders die Verschiebungen der Wasserstoffionenkonzentration der Kultur und der Staphylolysinbildung verfolgt haben. Es ist indessen allgemein bekannt, daß während des Wachstums außer den erwähnten zugleich zahlreiche andere Änderungen stattfinden. So bilden die Staphylokokken Kohlensäure und Ammoniak [*Riemer*⁴⁰⁾], ferner Schwefelwasserstoff [*Stagnitta-Balisteri*⁴¹⁾] und außer dem Staphylolysin auch andere toxisch wirkende Stoffe, nämlich *Leukocidin* (*van De Velde* [in 11 ref.]), welches die Leukocyten zerstört und *Agglomerin* (*Kraus* [in 11 ref.]), das die roten Blutkörperchen zusammenballt. Man hat ferner die Entstehung von verschiedenen *Enzymen* in Staphylokokkenkulturen beobachtet, und zwar ein mit trypsinähnlichen Eigenschaften ausgestattetes (*I. Rosenbach* 1884, später von *Claudio Fermi* studiert), ferner ein fettspaltendes und in einzelnen Fällen ein diastaseähnliches Enzym. Während des Wachstums werden Kohlenhydrate unter Milchsäure-, Buttersäure- und spurenweise Ameisensäurebildung vergoren, während die Proteinkörper zu einfacher zusammengesetzten Verbindungen abgebaut werden.

Daß eine rationelle Untersuchung über den Stoffwechsel der Staphylokokken das Problem der Lysinbildung an sich näher beleuchten würde, dürfte wohl sehr wahrscheinlich sein, aber in Anbetracht des großen Umfangs einer solchen Arbeit, mußte ich diese vorläufig zurückstellen.

Indessen habe ich einige Untersuchungen über den in der Bouillon vorkommenden organisch gebundenen Phosphor und dessen während des Wachstums der Staphylokokken stattfindenden Umbildung in anorganisches Phosphor unternommen, und da diese Versuche bezüglich der Frage betreffs Wachstum und Toxinbildung von einigem Interesse sind, werde ich sie an dieser Stelle mitteilen.

Der Phosphor findet sich bekanntlich in beträchtlichen Mengen im tierischen Organismus, und zwar teils in anorganischem Zustande in verschiedenen Salzen (besonders als Kalium- und Natriumphosphat), teils in organischer Bindung in Nuclein, Lecithin, in den sogenannten Phosphatiden, in Jecorin, Protagon, Phosphorfleischsäure und in vielen anderen organischen Verbindungen. Während der anorganische Phosphor von Calcium- und Bariumsalzen in alkalischer Lösung gefällt wird, läßt sich das organische nicht fällen, weshalb sich die Trennung dieser

beiden Verbindungen in der Analyse außerordentlich leicht ausführen läßt. *M. Siegfried* und *E. Singewald*⁴²⁾ haben dieses Verhältnis in Fleischextrakt untersucht. Die Verff. geben an, daß der hier vorkommende organisch gebundene Phosphor in erster Linie der Phosphorfleischsäure (Muskel-Nucleose) entstammt; sie haben gefunden, daß die Phosphorfleischsäure durch Säure- oder Alkalihydrolyse so gespalten wird, daß die Phosphorsäure frei wird und mit Calcium- oder Bariumsalz ausfällt. Wenn Fleischextraktlösungen mit verdünnter Schwefelsäure bei Zimmertemperatur stehen bleiben, wird allmählich die Gesamtmenge des organisch gebundenen Phosphors in anorganische Verbindung überführt. Die Verff. haben zugleich gezeigt, daß bei Faulen des Fleischextraktes (d. h. bei Wirksamkeit von Mikroben) sich derselbe Vorgang abspielt.

Die Bestimmung der Totalmenge des Phosphors wurde von den Verff. in gewöhnlicher Weise, nämlich durch Schmelzen von Fleischextrakt mit Natronhydrat und Salpeter in einer Silberschale unternommen; Wiederauflösen der geschmolzenen Masse, und Zusatz von Salpetersäure; nach Kochen und völligem Austreiben der untersalpetrigen Säure wird mit Ammoniummolybdat gefällt, in Magnesiumammoniumphosphat übergeführt, welches schließlich nach Glühen als Pyrophosphat gewogen wird.

Zur Bestimmung des organisch gebundenen Phosphors wird die Fleischextraktlösung erst mit Calciumchlorid und Ammoniak *vollständig* gefällt. Das Filtrat von der Fällung wird in einer Silberschale eingeeengt, mit Natron und Salpeter geschmolzen usw. wie oben.

Zur Phosphorsäurebestimmung habe ich die von *Gunnar Jörgensen*⁴³⁾ angegebene Methode verwendet.

Ich habe einzelne Versuche ausgeführt, um Aufschlüsse über das Schicksal der Phosphorverbindungen bei der Zubereitung der Bouillon zu erhalten, und zwar in erster Reihe bei der Extraktion des Fleisches mittels Wasser. Das zur Verwendung gekommene Fleisch (Durchschnittsprobe) enthielt 0,22% P. Eine passende Menge aus dieser Probe wurde dreimal je 1 Stunde bei 40° extrahiert, jedesmal mit der doppelten Menge Wasser, und es zeigte sich dann, daß 79,5% des P-Gehaltes des Fleisches ins Extrakt überging, während 20,5% in der Fleischsubstanz zurückblieben.

Der Extrakt wurde jetzt 5 Minuten bei 100° erwärmt, wodurch die koagulierbaren Proteinkörper ausgeschieden wurden; diese enthielten 5,7% des P-Gehaltes des Extraktes, während die 94,3% im Filtrate gefunden wurden.

Aus dem in diesem Filtrate enthaltenen P. waren

22,7% in organischer Verbindung und

77,3% in anorganischer Verbindung.

Natürlich ist der P-Gehalt des Fleisches und dadurch auch der der Bouillon keineswegs konstant, und der Gehalt an organisch gebundenem Phosphor in der Bouillon muß natürlich besonders variieren. Ich kann Analysen von einer Reihe Bouillons, die auf dieselbe Weise (d. h. 50% Fleisch, 1,5% Pepton und 0,5% NaCl) aber an verschiedenen Zeitpunkten dargestellt worden sind, anführen.

	% organ. Phosphors
26. VIII. 1918	0,0210
21. IX. 1918	0,0193
25. IX. 1918	0,0134
8. X. 1918	0,0258
31. X. 1918	0,0199
6. XI. 1918	0,0150
14. XI. 1918	0,0191
21. XI. 1918	0,0172
27. XI. 1918	0,0199

im Mittel: 0,019%.

Man sieht, daß eine in dieser Weise dargestellte Bouillon etwa 0,019% organischen Phosphors enthält, und daß die Variationen unter den zu verschiedenen Zeiten dargestellten Präparaten eigentlich kleiner sind als zu erwarten war.

In 5 von diesen Bouillons habe ich den Abbau des organisch gebundenen Phosphors während des Wachstums der Staphylokokken verfolgt. Jeder Versuch wurde in der Weise ausgeführt, daß die wie gewöhnlich dargestellte Bouillon (50% Fleisch, 1,5% Pepton und 0,5% NaCl) auf einen großen etwa 6 Liter fassenden und mit Hebevorrichtung zum sterilen Abziehen versehenen Kochkolben gefüllt wird. Das p_H der Bouillon ist auf etwa 7,5 eingestellt und der Apparat mit Inhalt im Autoklaven in 10 Minuten bei einem Druck von 1,5 Atm. sterilisiert. Nach Abkühlen wird mit 5 Tropfen 24stündiger Kultur (zu etwa 4 l Bouillon) geimpft, und zu den angeführten Zeiten Proben auf etwa 300 ccm entnommen; in diesen wird der anorganisch gebundene Phosphor *sofort* durch Zusatz von $CaCl_2$ und wenig NH_3 gefällt; die hieraus erhaltenen Filtrate werden nacheinander auf organisch gebundenes Phosphor analysiert.

Bei einem der ersten Versuche filtrierte ich die entnommenen Kulturproben sofort nach der Entnahme durch Berkefeldfilter, um zur Analyse eine klare Flüssigkeit, wovon der Bodensatz von Calciumphosphat sich leicht abfiltrieren ließ, zu erhalten; indessen ist dies völlig überflüssig, weil die Flüssigkeit nach der Ausfällung der anorganischen Phosphate sich vollständig klar in gewöhnlicher Weise durch Papierfilter filtrieren läßt.

Die Ergebnisse dieser Versuche sind in der Tabelle XXXV zusammengestellt und in der Kurve 21 aufgezeichnet worden.

Tabelle XXXV.

Zeit Std.	26. VIII. 18.	21. IX. 18.	25. IX. 18.	8. X. 18.	27. XI. 18.
0	0,210	0,1929	0,1337	0,2583	0,1994
4	—	—	—	0,2569	—
5	—	—	—	—	0,1990
6	—	0,1809	0,1242	—	—
7	0,200	—	—	0,2401	0,1841
9	—	—	0,1219	—	—
10	0,020	—	—	0,2108	—
11	—	—	—	—	0,0863
13	0,014	—	—	—	0,0334
14	—	—	—	0,1614	—
15	—	—	—	—	0,0304
17	—	0,0150	0,0154	—	0,0287
19	—	—	—	0,0169	—
20	—	—	—	—	0,0242
24	0,012	—	0,0135	0,0091	0,0201
29	—	0,0089	—	—	—
30	—	—	—	—	0,0193
31	—	—	—	0,0078	—
37	—	—	—	—	0,0183
38	—	—	—	0,0064	—
48	0,011	0,0085	0,0098	0,0059	0,0172
72	0,009	—	—	—	—
76	—	—	—	0,0051	—
96	—	0,0081	—	—	0,0167
120	—	—	0,0093	—	—
192	—	0,0079	—	—	—

Die Zahlen bezeichnen g organisch gebundenes Phosphor in 1000 ccm Kultur.

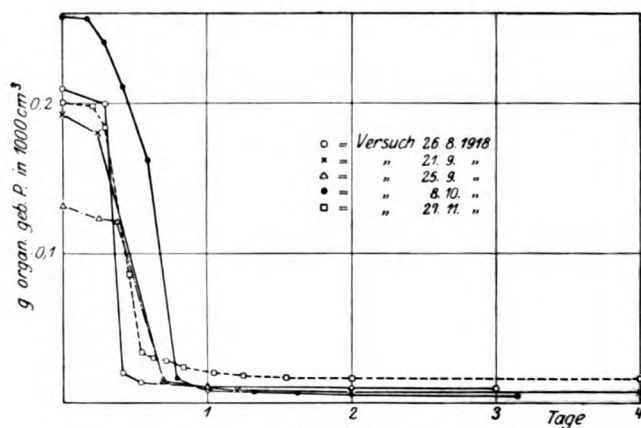


Abb. 21.

Um die wechselseitigen Beziehungen zwischen Abbau von organisch gebundenem Phosphor, Wachstum und Hämolsinbildung zu untersuchen, habe ich im Versuche 27/11 18 Zählungen der entwicklungsfähigen Bakterien in den zu den verschiedenen Zeiten entnommenen

Proben in gewöhnlicher Weise mittels Verdünnung und Plattengießen unternommen und in diesen Proben zugleich den Hämolysegehalt gemessen.

Abb. 22 gibt das Resultat des Versuches 27. XI. 1918 graphisch wieder.

Es geht aus diesen Versuchen hervor, daß in den ersten Stunden, bevor das Wachstum recht in Gang kommt, der Abbau minimal ist; nachdem aber das Wachstum stark zugenommen hat, wird der organisch gebundene Phosphor mit großer Geschwindigkeit abgebaut; die schroffen Kurven für Wachstum und Phosphorabbau kreuzen sich wenige Stunden nach dem Impfen der Kultur. Die größte Bakterienzahl pro Kubik-

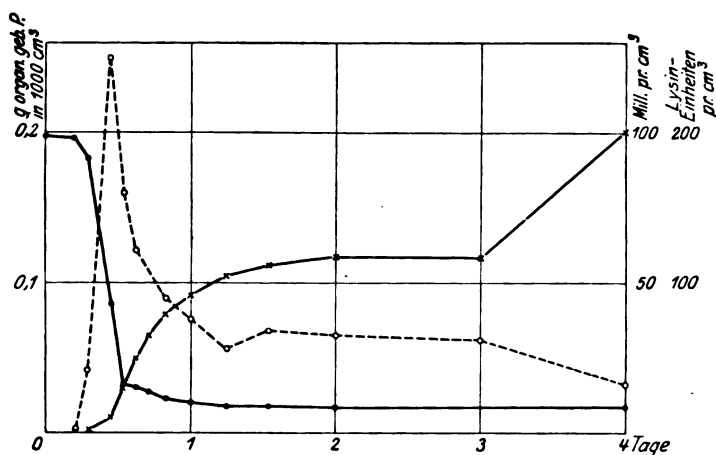


Abb. 22. ● g organ. geb. P in 1000 ccm Kultur. ○ Million. Bakterien pro ccm Kultur.
x Lysineinheiten pro ccm Kultur.

zentimeter findet sich in der Kultur nach etwa 11 Stunden, an welchem Zeitpunkt „der organische Phosphor“ größtenteils in „anorganischen Phosphor“ umgebildet worden ist. Natürlich ist dieser Abbau eine direkte Folge des Wachstums der Bakterien, andererseits ist diese Umbildung in anorganischen Phosphor sicher für die enorme Wachstumsenergie von großer Bedeutung, da die allmählich gebildeten anorganischen Phosphate zur Nahrung der Bakterien dienen. Wenn man vor dem Impfen die anorganischen Phosphate aus der Bouillon entfernt, stellt sich das Wachstum bedeutend später ein.

Es ist ferner aus dem Versuche ersichtlich, daß fast sofort nach dem Eintreten des starken Wachstums und dem Beginn des Phosphorabbaues, sich Hämolsin in der Kultur nachweisen läßt. Die Hämolsinbildung geht jedoch während der ersten stürmischen Wachstumsperiode nur langsam vor sich, und erst, wenn der Abbau des organischen Phosphors fast beendet ist, setzt die Hämolsinproduktion kräftig ein. Die Resultate der übrigen vier Versuche waren entsprechend.

Man wird ferner aus diesen Untersuchungen erschen, daß keineswegs der gesamte organisch gebundene Phosphor während der ersten Wachstumsperiode abgebaut wird; ein ganz kleiner Teil, welcher nur außerordentlich langsam umgebildet wird, bleibt zurück; in 20—30 Tage alten Kulturen finden sich noch geringe Spuren organisch gebundenen Phosphors, wenn aber die Kultur 2—3 Monate gestanden hat, sind auch diese verschwunden.

Ich habe ferner versucht, die Umbildung des in organischer Verbindung vorkommenden *Schwefels* in *anorganischen* Schwefel zu verfolgen. Die Analyse wurde so ausgeführt: Zu 300 cem der Kulturprobe wurden 20 cem $\frac{1}{2}$ HCl + überschüssiges Bariumchlorid getan und am nächsten Tag filtriert; hierdurch wird der als Sulfat vorkommende Schwefel entfernt. Die Lösung wird jetzt mit NH_3 übersättigt und nach Zusatz von CaCl_2 werden die *anorganischen* Phosphate abfiltriert. Einengung der Lösung, Schmelzen mit Natron + Salpeter, Lösen in Wasser + HNO_3 bis saure Reaktion — Kochen und (falls nötig) Zusatz von Bariumchlorid; der erschienene Bodensatz wird abfiltriert, gegläht und als BaSO_4 gewogen.

Im Filtrate wird die Phosphorsäure wie gewöhnlich, nachdem vorhandene Barytsalze durch Fällen mit überschüssiger Schwefelsäure entfernt worden sind, bestimmt. — Die Schwefelbestimmungen waren leider nicht durchführbar, denn die Ausfällung des anorganischen Schwefels in den Kulturfiltraten, welche ohne Erwärmen vor sich gehen muß, wird nämlich kolloidal aufgeschwemmt, läßt sich durch Papier nicht abfiltrieren und auch nicht abzentrifugieren. Ich habe Berkefeldfiltrieren versucht, die Filter werden aber so schnell verstopft, daß die Filtration unmöglich wird. Diese Schwierigkeiten stellten sich nicht mit der Bouillon an sich ein, sondern erst, wenn das Wachstum im Gange war. Ich habe deshalb Analysen in der Bouillon (0.2373 g org. Schwefel pro 1000 cem) und in der Kultur nach 4stündigem Aufenthalt im Thermostaten (0.21879) ausgeführt. Diese beiden Bestimmungen zeigen jedoch — wie zu erwarten war — daß während des Wachstums der Staphylokokken eine Umbildung von organisch gebundenem Schwefel in anorganisch gebundenen, oder jedenfalls in eine direkt von Bariumchlorid fällbare Form, stattfindet.

Zusammenfassung.

Da die Messung der Wasserstoffionenkonzentration in Nährböden. Kulturen und Kulturfiltraten bald eine täglich vorkommende Arbeit in jedem Laboratorium sein wird, wo in theoretischer oder praktischer Beziehung mit Mikroorganismen gearbeitet wird, habe ich — trotz der schon vorliegenden diesbezüglichen nicht geringen Literatur — in der Einleitung dieser Arbeit meine Erfahrungen auf diesem Gebiete kurz

erwähnt; ich habe dort besonders die Schwierigkeiten angeführt, welche die elektrometrische Messung in gewissen Fällen darbietet; während die Messungen in Flüssigkeiten mit einem niedrigeren p_H als ca. 6,0 immer glatt verlaufen, sind sie in neutralen oder alkalischen Nährböden und Kulturen oft undurchführbar. Die Ursache dieses Nachteils scheint in flüchtigen Stoffen (Ammoniak, Schwefelverbindungen), die während des Erwärmens der Nährböden oder während des Wachstums der Kulturen gebildet werden, gelegen zu sein. Die elektrometrischen Messungen sind in alkalischer Bouillon, die nicht durch Erhitzen sterilisiert worden ist, leicht durchführbar. In den Fällen, wo die elektrometrische Messung keine Schwierigkeiten dargeboten hat, hat sie eine vorzügliche Übereinstimmung mit den gleichzeitig ausgeführten colorimetrischen Bestimmungen gezeigt.

Es war bei einer Mehrzahl der Versuche von großer Bedeutung, die bei der Versuchstemperatur vorhandene Wasserstoffionenkonzentration zu kennen, weshalb die colorimetrischen Messungen — welche fast bei sämtlichen Versuchen verwendet worden sind — in einem mit Glaswänden versehenen und auf die gewünschte Temperatur eingestellten Wasserbade ausgeführt wurden. Für die Messungen wurden Sörensens Standardlösungen und die von mir in einer früher erschienenen Arbeit gefundenen Temperaturkorrekturen benutzt.

In einigen Versuchsreihen fand ich, daß die Änderung, die beim Erwärmen der Bouillon stattfindet, so verläuft, daß p_H mit ansteigender Temperatur kleiner wird; die Änderung ist in den am meisten alkalischen Mischungen am größten und nimmt mit abnehmender Alkalinität allmählich ab. Beim Zusammenstellen der verschiedenen Versuchsergebnisse ersieht man, daß diese Änderungen der Wasserstoffionenkonzentration mit der Temperatur für, an verschiedenen Zeitpunkten von einander ganz unabhängig dargestellten Pepton-Bouillonpräparaten gleich sind; und dasselbe ist mit den von mir auf verschiedenen Entwicklungsstadien untersuchten Bakterienkulturen in Peptonbouillon (Staphylokokken und Diphtheriebacillen) und so auch mit ihren Filtraten (d. h. Toxinen) der Fall; dieses Verhalten ist von großem Nutzen, denn es gestattet mittels einer Kurve (Abb. 1), auf welcher die Verschiebungen im p_H pro 1° als Ordinate eingezeichnet sind, und als Abszissen die entsprechenden p_H in den untersuchten Flüssigkeiten bei 18° — wenn z. B. das p_H einer Bouillon bei 18° bekannt ist — abzulesen, um wieviel sich die Wasserstoffionenkonzentration dieser Bouillon (in p_H) bei Erwärmung oder Abkühlung um je 1° erwärmt, verschiebt.

Aus den Versuchen selbst über das Wachstum der Staphylokokken und über die Bildung des Staphylolysins glaube ich folgende Schlüsse ziehen zu dürfen.

Bei den günstigsten Temperaturen wachsen die Staphylokokken

zwischen p_H etwa 4,5 und p_H etwa 9,8; diese Grenzen werden sowohl bei höheren als bei niedrigeren Temperaturen etwas eingengt; bei 48° findet so nur zwischen $p_H = \text{ca. } 4,9$ und $p_H = \text{ca. } 8,7$ Wachstum statt, und bei 10,5° nur zwischen $p_H = \text{ca. } 5,2$ und $p_H = \text{ca. } 7,5^*)$. Das Optimum der Wasserstoffionenkonzentration für Wachstum liegt bei $p_H = \text{ca. } 6,50$, welches bei sämtlichen Temperaturen zwischen 10,5 und 48° dasselbe ist.

Das *Temperaturoptimum* für Wachstum liegt bei etwa 34—36°, das Wachstum wird aber bei den günstigsten Wasserstoffionenkonzentrationen erst bei Temperaturen oberhalb ca. 44° und unterhalb ca. 26° langsamer.

Während des Wachstums stellen sich große Verschiebungen in der Wasserstoffionenkonzentration der Kulturen in der Weise ein, daß erst ein Fallen des p_H stattfindet, wonach die Reaktion wieder allmählich alkalischer wird; wann dieser Umschlag stattfindet, ist von dem p_H der Bouillon vor dem Impfen abhängig.

Alle Kulturen haben das Bestreben, sich auf eine Wasserstoffionenkonzentration zwischen $p_H = \text{etwa } 8$ und $p_H = \text{etwa } 9$ einzustellen.

Der Einfluß der Temperatur zwischen 25 und 42° auf diese Verhältnisse scheint nicht wesentlich zu sein.

Die Lysinbildung in den Kulturen verläuft in den Hauptzügen als ein Ansteigen mit einem darauf folgenden Fallen, aber sowohl das Ansteigen als das Fallen stellt sich mit steigender Versuchstemperatur um so schneller ein.

In den Kulturen mit der größten Alkalinität findet sich kein Lysin oder nur geringe Mengen; erst in den Kulturen, deren Anfangs- p_H etwa 8—9 ist, sind größere Hämolyсинmengen zu finden; die Lysinmenge nimmt mit der Acidität der Bouillon zu und ist in den am meisten sauren am größten.

Um den Verlauf dieser Kurven zu deuten, war es notwendig, die Abschwächung des Lysins bei verschiedener Wasserstoffionenkonzentration und Temperatur zu untersuchen. Die für die Erhaltung des Staphylolysins günstigste Wasserstoffionenkonzentration liegt bei $p_H = \text{ca. } 6,0$, da bei dieser und bei niedrigeren Temperaturen als 40° in 6 Tagen keine meßbare Abschwächung des Lysins stattfindet; bei 45° wird das Lysin bis zur Hälfte abgeschwächt. Wird die Wasserstoffionenkonzentration verkleinert oder vergrößert, stellt sich eine Abschwächung des Lysins ein und bei $p_H = \text{ca. } 8—9$ und $p_H = \text{ca. } 4$ ist die Abschwächung je nach der Temperatur und Zeit eine totale.

Den Versuchen zufolge darf es als wahrscheinlich angesehen werden,

*) Diese Zahlen sind natürlich keineswegs absolute, sie dürften noch von anderen Faktoren, welche die Entwicklung der Mikroben beeinflussen, abhängig sein.

daß das Fallen der Lysinkurve hauptsächlich von der zunehmenden Alkalinität der Kultur verursacht wird, wodurch die Lysinzerstörung so schnell vor sich geht, daß die Produktion die Konzentration nicht aufrecht erhalten kann.

Das *Zeitoptimum* für Lysinbildung ist sowohl von der Temperatur als von dem Anfangs- p_H der Bouillon abhängig. Es stellt sich mit steigender Temperatur immer früher ein, bis um 40°, wo die Lysinkurve nach 2–3 Tagen ihr Optimum erreicht; bei höheren Temperaturen wird die bis zum Eintritt des Optimums verlaufende Zeit wieder länger.

Das *Temperaturoptimum* der Lysinbildung liegt um 40° und kommt nur in bezug auf die Bildungsgeschwindigkeit vor, weil nach meinen Versuchen die produzierte Lysinmenge bei den verschiedenen Temperaturen unterhalb 40° fast dieselbe ist.

Das *Optimum der Wasserstoffionenkonzentration* für die Lysinbildung liegt um $p_H =$ etwa 5,0, wenn dadurch die Wasserstoffionenkonzentration der Bouillon vor dem Impfen verstanden wird, dagegen ist es schwierig zu entscheiden, welche Wasserstoffionenkonzentration während der Lysinbildung in der Kultur am günstigsten ist, weil das p_H während des Wachstums großen Schwankungen unterworfen ist.

Auf Grund verschiedener Erwägungen glaube ich jedoch ein $p_H =$ ca. 6,00–7,00 als das wahre Optimum der Wasserstoffionenkonzentration der Staphylolysinbildung anführen zu dürfen.

Es würde sowohl in theoretischer als in praktischer Beziehung von Interesse sein zu versuchen, ob es durch Zusatz von „Puffer“ zu den Nährböden möglich wäre, die großen während des Wachstums stattfindenden Schwankungen in der Wasserstoffionenkonzentration der Kulturen zu beseitigen, und dadurch vielleicht die Zerstörung des gebildeten Lysins entweder zu verhindern oder jedenfalls zu beschränken. Es sind Versuche mit Phosphaten ausgeführt worden, welche zeigen, daß es möglich ist, die Schwankungen der Wasserstoffionenkonzentration in den Kulturen größtenteils zu verhindern, hierzu sind aber ziemlich große Salzmengen (2–4%) erforderlich, welche die Lysinbildung herabsetzen oder fast aufheben.

Versuche mit Züchtung der Staphylokokken auf „künstlichen“ eiweißfreien Naturböden mißlingen; ein geringer Zusatz von Pepton (1%) verursachte aber ein lebhaftes Wachstum; da die Mikroben in einer 1 proz. Peptonlösung ohne weiteren Zusatz nicht wachsen, dagegen aber z. B. in Nährböden *Ushinskys* mit 1% Pepton gut, bietet sich hier eine Gelegenheit dar, die Bedeutung der verschiedenen Bestandteile dieses Nährbodens (Glycerin, $CaCl_2$, $MgSO_4$, K_2HPO_4 , NaCl, Ammoniumlactat und Natriumasparaginat) für Wachstum und Lysinbildung zu untersuchen.

Diese Untersuchungen haben folgende Ergebnisse gezeitigt: Der am einfachsten zusammengesetzte Nährboden, in welchem die Staphylokokken nicht nur wachsen können, sondern auch Lysin bilden, ist eine 1proz. Lösung von Pepton Witte mit 0,2% K_2HPO_4 .

In sämtlichen Mischungen, die K_2HPO_4 enthalten, wird Wachstum, aber nicht immer Lysinbildung erhalten. In den Mischungen, worin wohl Wachstum aber keine Lysinbildung auftritt, findet sich kein $MgSO_4$; beim Hinzufügen dieses Salzes erhält man eine kräftige Lysinbildung.

Die Versuche zeigen somit, daß K_2HPO_4 von großer Bedeutung für das Wachstum und $MgSO_4$ für die Lysinbildung ist.

Bei Spaltung des Pepton Witte in verschiedene Fraktionen (Albumosen, Peptone und Aminosäuren) und Untersuchung dieser auf ihre Bedeutung für Wachstum und Lysinbildung, zeigt es sich, daß die in dieser Beziehung wichtigen Stoffe nicht von den Albumosen (der Hauptbestandteil des Pepton Witte) herrühren, sondern von den durch den Verdauungsprozeß weiter abgebauten Verbindungen.

Die gewöhnliche bei Untersuchungen dieser und ähnlicher Art verwendete Peptonbouillon, wird allgemein in der Weise zubereitet, daß zu jedem Liter fertiggestellten Nährbodens 500 g Fleisch, 1–2% Pepton (Witte o. a.) und 0,5% NaCl verwendet wird; da es im voraus unmöglich ist zu wissen, ob eben diese seit vielen Jahren gewählte Zusammensetzung zum vorliegenden Zwecke die am besten geeignete ist, wurden einige Versuche über die Bedeutung der Konzentration von Fleischextraktivstoffen, Pepton und Chlornatrium ausgeführt. Es zeigte sich hierbei, daß die günstigste „Fleischkonzentration“ bei 25% liegt (d. h. 250 g Fleisch zu 1 l Nährboden), da die gebildete Lysinmenge bei sowohl größerem als bei kleinerem Gehalt von Fleischextraktivstoffen kleiner wird.

Die Peptonkonzentration scheint (von 0,1–3%) mit Bezug auf die gebildete Lysinmenge keine größere Rolle zu spielen; die Produktionsgeschwindigkeit ist größer in den Kulturen mit den kleinen als in denen mit den größeren Peptonmengen, andererseits stellt sich aber das Fallen der Kurve früher ein.

Der Chlornatriumgehalt der Kulturen ist für die Lysinbildung von allergrößter Bedeutung, da diese allmählich und regelmäßig mit steigendem Salzgehalt abnimmt. Das beste Resultat wird vielleicht bei Vermeidung des Salzes erreicht.

Beim Sterilisieren der Nährböden durch Erhitzen entweder bei 100° oder bei höheren Temperaturen im Autoklaven wird in der Regel die Wasserstoffionenkonzentration derselben erhöht. Die Verschiebung ist in den am meisten alkalischen Mischungen am größten, um danach mit abnehmender Alkalinität (bis p_H = etwa 5,0) kleiner zu werden; in

Bouillons mit niedrigerem p_H wird durch Erhitzen im Autoklaven ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 115°) keine Verschiebung hervorgerufen.

Ein Nährboden darf erst dann verwendet werden, wenn man dessen Wasserstoffionenkonzentration nach dem Sterilisationsprozesse untersucht hat, und eventuell die Reaktion mittels Säure oder Base korrigiert hat.

Nach meinen Versuchen scheint die Dauer der Erwärmungszeit und die Temperatur keine bedeutende Rolle für die Staphylolysinbildung zu spielen; die größte Lysinbildung wird in den Nährböden erzielt, die vor der Alkalinisierung sterilisiert worden sind, d. h. bei $p_H =$ etwa 6–6,5.

Von der früher erwähnten Beobachtung veranlaßt, daß $MgSO_4$ einen bedeutend fördernden Einfluß auf die Staphylolysinbildung hat, habe ich eine Reihe von Untersuchungen über die Bedeutung des Vorhandenseins anderer Metallsalze in den Kulturen während des Wachstums unternommen. Aus diesen Versuchen geht hervor, daß jedes der untersuchten Metallsalze in irgendeiner Konzentration die Lysinbildung entweder fördert oder hemmt. Es scheint aber keine Gleichmäßigkeit innerhalb der verschiedenen Metallsalzgruppen vorhanden zu sein. Die Salze von Mg, Ni, Mn, Au und Pt wirken fördernd. Salze von Ca wirken stark hemmend und heben bei etwas größeren Dosen (0,1% einer $\frac{1}{1}$ molarer Lösung) die Lysinbildung völlig auf.

Unter den zahlreichen Veränderungen in der Zusammensetzung des Nährbodens, welche unzweifelhaft während des Wachstums der Staphylokokken vor sich gehen, lassen sich mit unseren jetzigen Hilfsmitteln nur einzelne verfolgen. Ich habe in mehreren Versuchsreihen dem Abbau der organischen phosphorhaltigen Stoffe gefolgt, durch welche der Phosphor in anorganische Verbindungen übergeht. Es ging aus den Versuchen hervor, daß in den ersten Stunden vor Eintritt des Wachstums der Abbau minimal ist, daß aber, sobald das Wachstum kräftiger wird, der organisch gebundene Phosphor sehr schnell abgebaut wird. Die sehr steilen Kurven für Wachstum und Phosphorabbau kreuzen sich wenige Stunden nach dem Impfen der Kulturen. Die größte Bakterienanzahl pro Kubikzentimeter findet sich in den Kulturen nach ca. 11 Stunden, wenn der organisch gebundene Phosphor größtenteils in anorganisch gebundenen umgebildet worden ist.

Wirft man einen Rückblick auf diese Untersuchungen, wo verschiedene Bedingungen für das Wachstum der Staphylokokken und für ihre Fähigkeit Hämolyisin zu bilden eingehend untersucht worden sind, so wird es ersichtlich, wie notwendig es ist, die Bedeutung dieser verschiedenen Faktoren kennen zu lernen, falls man erstrebt, den optimalen Bedingungen für das Wachstum und besonders für die Lysinbildung so nahe wie möglich zu kommen. Die Versuche über die

Bedeutung der Zusammensetzung der Bouillon bietet in dieser Beziehung ein gutes Beispiel dar. Durch Änderung der gewöhnlich verwendeten quantitativen Verhältnisse — „25%“ Fleisch anstatt „50%“, 0,1% Pepton anstatt 1,5–2% zu verwenden und von einem Chlor-natriumzusatz völlig abzusehen — erreicht man nicht nur eine ebenso starke Toxinbildung, sondern zugleich, daß dieses Resultat weit schneller als sonst sich einstellt; ein derartiges Verhalten kann außer von theoretischer auch von praktischer und zugleich von ökonomischer Bedeutung sein.

Ohne betreffs dieser Verhältnisse auf eine Diskussion näher einzugehen, die durch viele Wiederholungen leicht langweilig sein würde, werde ich jedoch auf das neue und ausgedehnte Arbeitsgebiet aufmerksam machen, welches durch die Beobachtungen über den Einfluß der verschiedenen Metallsalze (Katalysatoren) auf das Toxinbildungsvermögen der Mikroben, eröffnet worden ist; man wird vielleicht hier einige der Ursachen der großen Variationen in der Toxinbildung finden — die, trotz gleichmäßiger Behandlung bei der Darstellung oft beobachtet werden -- und es ist sehr wahrscheinlich, daß es durch weiteres Studium und Regulierung dieser Verhältnisse gelingen wird, nicht nur das ganze Problem der Toxinbildung auf feste Füße zu stellen, sondern auch das giftproduzierende Vermögen der Mikroben zu vergrößern.

Literatur.

- 1) *Sørensen, S. P. L.*, Medd. fra Carlsberg Lab. 1909; Biochem. Zeitschr. **21**. 1909; Ergebn. d. Physiol. **12**. 1912. -- 2) *Büttmann, E.*, Kjöbenhavns Universit. Festschrift 1920. -- 3) *Walbum, L. E.*, Biochem. Zeitschr. **107**. 1920. -- 4) *Deele-mann*, Arb. a. d. k. Gesundheitsamt **13**, 397. -- 5) *v. Lingelsheim*, Ätiologie u. Therapie d. Staphylok.-Inf. Berlin-Wien 1900. -- 6) *Lübbert*, Biol. Spaltpilzunters. Würzburg 1886. -- 7) *Menge und Krönig*, Bakt. weibl. Genitalkanal. Leipzig 1897. -- 8) *Neisser und Wechsberg*, Münch. med. Wochenschr. 1900 und Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **36**. 1901. -- 9) *Matzschita*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **35**. 1900. -- 10) *Raoul-Deslongchamps*, Thèse, Paris, Steinheil 1897. -- 11) *Neisser, Max*, Die Staphylokokken. *Kolle u. Wassermann*, Die pathogen. Mikroorg. 2. Aufl. **4**. 1912. -- 12) *Madsen, Th.*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **32**. 1899; *Kraus u. Leraditi*, Handb. d. Techn. u. Method. der Immunitätsforsch. **1**. 1907. -- 13) *Walbum, L. E.*, Ov. o. d. Kgl. D. Vid. Forh. 1915, Nr. 1 und Bioch. Zeitschr. **63**. 1914. -- 14) *Madsen, Faemulener und Walbum*, Brit. med. Journ. **2**. 1904. -- 15) *Faemulener und Madsen*, Biochem. Zeitschr. **11**. 1908. -- 16) *Atkin, E. E.*, The Biochem. Journ. **8**. 1914. -- 17) *Lubenow*, Zentralbl. f. Bakt. **30**. 1901. -- 18) *Fränkel und Baumann*, Münch. med. Wochenschr. 1905. -- 19) *Dernby, K. G.*, Medd. fr. K. Vet. Nobelinstitut **5**. 1919. -- 20) *Madsen, Th.*, Disput. 1896 und Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **26**. -- 21) *Ushinsky*, Zentralbl. f. Bakt. **14**. 1893; **31**. 1897. -- 22) *Proskauer und Beck*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **73**. 1911. -- 23) *Lowenstein und Pick*, Biochem. Zeitschr. **31**. 1911. -- 24) *Kühne*, Zeitschr. f. Biolog. **29**. -- 25) *Hesse*, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. 1904. -- 26) *Clark, W. M.*, Journ. of inf. Dis. **12**. 1915. -- 27) *v. Anthony und Ekroth*, Journ. of Bact.

1. 1916. — ²⁸⁾ *Mc Intosh* und *Smart*, Brit. Journ. of exper. Pathol. **1**. 1920. — ²⁹⁾ *Bunker*, W. M., Journ. of Bact. **4**. 1919. — ³⁰⁾ *Raulin*, Ann. sc. natur. botanique. 1869. — ³¹⁾ *Biernacki*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **49**. — ³²⁾ *Hüne*, Centralbl. f. Bact. **48**. 1908. — ³³⁾ *Bertrand* und *Javillier*, C. R. **152**. 1911. — ³⁴⁾ *Bertrand* Ann. de l'Inst. Pasteur **26**, 766. 1912. — ³⁵⁾ *Antonne Nĕmec* und *Václav Kás*, Bioch. Zeitschr. **114**. 1921. — ³⁶⁾ *Richet*, C. R. **114**. 1892. — ³⁷⁾ *Duclaux*, Mikrobiol. **4**, 366. 1901. — ³⁸⁾ *Bertrand* und *Sazerac*, C. R. **157**. — ³⁹⁾ *Ichiro Otsuka*, Bioch. Zeitschr. **114**. 1921. — ⁴⁰⁾ *Riemer*, Arch. f. Hyg. u. Infektionskrankh. **71**. 1909. ⁴¹⁾ *Stagnitta-Balisteri*, ref. Kossel, Malys Jahrb. **28**. 1898. — ⁴²⁾ *Siegfried* und *Singewald*, Zeitschr. f. Unters. d. Nahr. u. Genußm. **10**. 1905. — ⁴³⁾ *Jørgensen*, Gunnar, Kgl. D. Vid. Selsk. Skrift. 1905. — ⁴⁴⁾ *Walbum*, L. E., Zeitschr. f. Immunit. **3**. 1909. — ⁴⁵⁾ *Foster* und *Randall*, Journ. of Bact. **6**. 1921. — ⁴⁶⁾ *Dernby*, K. G. und *Hans David*, Journ. of Path. a. Bact. **24**. 1921. — ⁴⁷⁾ *Purdy*, *Helen St.* und *Walbum*, L. E., Compt. rend. d. séances de la Soc. de Biol. 1921.

Berichtigung

zur Mitteilung von D. H. West er, diese Zeitschr. 128, 279. 1922.

Zeile 2 von oben muß es heißen: harnstoffspaltende statt harnspaltende.

Biochemische Zeitschrift

Beiträge
zur chemischen Physiologie und Pathologie

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Würzburg, C. von Noorden-Frankfurt a. M.,
E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin,

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, L. Asher-Bern, M. Bergmann-Berlin-Dahlem, G. Bertrand-Paris,
A. Bickel-Berlin, F. Blumenthal-Berlin, A. Bonanni-Rom, F. Bottazzi-Neapel, G. Bredig-
Karlsruhe i. B., R. Doerr-Basel, A. Durig-Wien, F. Ehrlich-Breslau, H. v. Euler-Stock-
holm, S. Flexner-New York, J. Forssman-Lund, S. Fränkel-Wien, E. Freund-Wien,
H. Freundlich-Berlin-Dahlem, E. Friedberger-Greifswald, E. Friedmann-Berlin-Dahlem,
Wien, F. Haber-Berlin-Dahlem, H. J. Hamburger-Groningen, P. Harl-Budapest,
F. Hayduck-Berlin, E. Hägglund-Abo, A. Heffter-Berlin, V. Henri-Paris, V. Henriques-
Kopenhagen, R. O. Herzog-Berlin-Dahlem, K. Hess-Berlin-Dahlem, W. Heubner-
Göttingen, R. Höber-Kiel, M. Jacoby-Berlin, A. Koch-Göttingen, M. Kochman-Berlin,
a. S., F. Landolt-Buenos Aires, L. Langstein-Berlin, E. Laqueur-Amsterdam, P. A. Levene-
New York, L. v. Liebermann-Budapest, J. Loeb-New York, S. Loewe-Dorpat,
A. Loewy-Berlin, H. Lüers-München, Th. Madsen-Kopenhagen, A. Magnus-Levy-Berlin,
J. A. Mandel-New York, L. Marchlewski-Krakau, P. Mayer-Karlsbad, J. Meisenheimer-
Greifswald, L. Michaelis-Berlin, H. Molisch-Wien, J. Morgenroth-Berlin, E. Münzer-Frag,
H. Murschhauser-Düsseldorf, W. Nernst-Berlin, W. Ostwald-Leipzig, W. Palladin-
St. Petersburg, J. K. Parnas-Lemberg, Th. Paul-München, W. Pauli-Wien, B. Pfeiffer-
Breslau, E. P. Pick-Wien, J. Pohl-Breslau, Ch. Porcher-Lyon, P. Rona-Berlin, H. Sachs-
Heidelberg, S. Salaskin-St. Petersburg, T. Sasaki-Tokio, A. Scheunert-Berlin, A. Schloß-
mann-Düsseldorf, S. P. L. Sørensen-Kopenhagen, K. Spiro-Basel, E. H. Starling-London,
J. Stoklasa-Prag, W. Straub-Freiburg i. B., A. Stutzer-Königsberg i. Pr., K. Suto-
Kanazawa, U. Suzuki-Tokio, H. v. Tappelner-München, K. Thomas-Leipzig,
H. Thoms-Berlin, P. Trendelenburg-Rostock, O. Warburg-Berlin, E. Widmark-Lund
W. Wichowski-Prag, A. Wohl-Danzig, J. Wohlgemuth-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin

Hundertneunundzwanzigster Band

Fünftes und sechstes Heft

Ausgegeben am 23. Mai 1922



Berlin

Verlag von Julius Springer

1922



GIFT

Die Biochemische Zeitschrift

erscheint in zwanglosen Heften, die in kurzer Folge zur Ausgabe gelangen; je sechs Hefte bilden einen Band. Der Preis eines jeden Bandes im Umfange von 40 Bogen beträgt M. 168.—. Die Biochemische Zeitschrift ist durch jede Buchhandlung sowie durch die unterzeichnete Verlagsbuchhandlung zu beziehen.

In der Regel können Originalarbeiten nur Aufnahme finden, wenn sie nicht mehr als 1½ Druckbogen umfassen. Sie werden mit dem Datum des Eingangs versehen und der Reihe nach veröffentlicht, sofern die Verfasser die Korrekturen rechtzeitig erledigen. — Mitteilungen polemischen Inhalts werden nur dann zugelassen, wenn sie eine tatsächliche Richtigstellung enthalten und höchstens 2 Druckseiten einnehmen.

Manuskriptsendungen sind an den Redakteur, Herrn Prof. Dr. C. Neuberg, Berlin-Dahlem, Hittorfstr. 18, zu richten.

Die Verfasser erhalten 100 Sonderabdrücke ihrer Abhandlungen kostenfrei bis zu einem Umfang von 1½ Druckbogen, von größeren Arbeiten nur 75, weitere gegen Berechnung.

Verlagsbuchhandlung Julius Springer

Berlin W 9, Linkstraße 23/24.

129. Band.	Inhaltsverzeichnis.	Heft 5/6. Seite
Butkewitsch, Wl.	Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von <i>Aspergillus niger</i> auf Pepton . . .	445
Butkewitsch, Wl.	Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die <i>Citromyces</i> -Arten . . .	455
Butkewitsch, Wl.	Über die Bildung und Anhäufung der Oxalsäure in den <i>Citromyces</i> -Kulturen auf den Salzen der organischen Säuren . . .	464
Hofmeister, Franz.	Studien über qualitative Unterernährung. II. Mitteilung. Der experimentelle Nachweis des Antineuritins . . .	477
Kilb, Julius.	Zur physikalischen Chemie der Alexinbindungsreaktionen . . .	487
Haramaki, Katsumi.	Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke der Secretine des Digestionstractus . . .	503
Turina, Božo.	Vergleichende Versuche über die Einwirkung der Selen-, Schwefel- und Tellursalze auf die Pflanzen. (Nebst Bemerkungen zu der Frage, ob die allgemeine Ansicht von der Absorption der anorganischen Stoffe durch das Wurzelsystem zu ändern ist) . . .	507
Bartfeld, Bernhard.	Über die subacute Uranvergiftung der Kaninchen . . .	534
Günzburg, Ludwig.	Über Theobrominausscheidung und Theobromindiurese . . .	549
Okushima, Kwanichiro.	Über die Coffeinausscheidung im Harn nach dem Tee- und Kaffeetrinken beim Menschen . . .	563
Farmer Loeb, L.	Über die Coffeinkonzentration im Blut und Harn beim Kaninchen nach parenteraler Einverleibung . . .	570
Falta, W. und M. Richter-Quittner.	Nochmals zur Frage der Verteilung des Zuckers auf Blutkörperchen und Plasma . . .	576
Biedermann, W.	Die Regeneration der Diastase und ihre Abhängigkeit vom Sauerstoff . . .	582
Meyerkhof, Otto.	Die Verbrennungswärme der Milchsäure . . .	594
Koritschoner, Robert.	Refraktometrische Untersuchungen über die Reaktionen zwischen isolierten Krebszellen und Blutserum. II. Mitteilung . . .	605
Berichtigung . . .	. . .	620
Autorenverzeichnis . . .	. . .	621

Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von *Aspergillus niger* auf Pepton.

Von

Wl. Butkewitsch.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des land- und forstwirtschaftlichen Instituts Charkow, Rußland.)

(Eingegangen am 7. Februar 1922.)

Bekanntlich bildet sich in den Kulturen von *Aspergillus niger* auf Pepton neben dem Ammoniak die Oxalsäure, welche das Ammoniak bindet und dadurch den Pilz sich ungehindert auf diesem Nährboden entwickeln läßt¹⁾.

Die reichliche Anhäufung von Oxalsäure auf dem Pepton wurde schon von *Wehmer* nachgewiesen²⁾. In dieser Arbeit bemerkt *Wehmer*, daß im gegebenen Falle die Oxalsäure sich als Ammoniaksalz anhäuft, und meint, indem er die Bildung neutralen Salzes annimmt, daß man von der Oxalsäure auf die entsprechende Menge des sich aus dem Pepton gebildeten Ammoniaks schließen darf³⁾. Später wurde auf die Anhäufung von oxalsaurem Ammoniak in den Kulturen des *Asperg. niger* von *Emmerling*⁴⁾ nicht nur für das Pepton und die Eiweißstoffe (Eiweiß, Casein, Gelatine), sondern auch für einige in den Bestand des Eiweißmoleküls gehörige Aminosäuren hingewiesen⁵⁾.

¹⁾ Wl. Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan. **38**, 147. 1902 und „Sammelwerk“, K. A. Timirjaseff gewidmet 1916, S. 457 (russisch mit französischem Résumé).

²⁾ C. Wehmer, Bot. Zeitung **49**, 233. 1891.

³⁾ „Die Voraussetzung“, sagt *Wehmer*, „daß dies (NH₃) als neutrales Oxalat zugegen, trifft nachweislich, und daß es nur in dieser Form, wahrscheinlich zu.“ C. Wehmer loc. cit.

⁴⁾ O. Emmerling, Zentralbl. f. Bakteriologie usw. Abt. II. **10**, 273. 1903.

⁵⁾ Die Bildung von Ammoniak und Oxalsäure bei der Entwicklung des *Asperg. niger* auf Aminosäuren ist noch früher von mir (Wl. Butkewitsch, Jahrb. f. wiss. Botan. **38**, 147. 1902) festgestellt worden. Daß sich in den Kulturen mit Aminosäuren dieselben Produkte bilden wie auch in den Kulturen mit Eiweißstoffen, ist übrigens selbstverständlich nach der Feststellung, daß die Aminosäuren eine Übergangsphase bilden, welche die Eiweißstoffe bei ihrer Umwandlung durch Pilze durchmachen (Wl. Butkewitsch, loc. cit.).

Indem *Wehmer* und *Emmerling* auf die Bildung von oxalsaurem Ammoniak in den obenerwähnten Fällen hinwiesen, machten sie jedoch nicht den Versuch, das Quantitätsverhältnis zwischen dem Ammoniak und der Oxalsäure genauer festzustellen. Beide Autoren beschränken sich nur auf die Bestimmung der Oxalsäure. Eine parallele Bestimmung des Ammoniaks findet sich jedoch nicht bei ihnen. Die Ergänzung dieser Lücke bildet eine der Aufgaben des weiter unten beschriebenen Versuchs.

Versuch A. Der Versuch bestand aus 16 Kulturen, welche 4 identische Serien bildeten. In jeder Serie waren 4 Kulturen mit verschiedenem Peptongehalt in Nährlösung, und zwar: 1. 2,5%, 2. 5%, 3. 10% und 4. 20%. Außer dem Pepton war der Nährlösung die gewöhnliche Salzmischung (mit ZnSO_4) im Verhältnis 0,2% zugesetzt. Für jede Kultur waren 50 cem Nährlösung genommen. Die Serien (I, II, III, IV) wurden zur Analyse in gleichen Zwischenräumen zu 10 Tagen genommen. Die Temperatur des Thermostats, in welchem die Kulturen sich befanden, schwankte im Laufe der ersten 10 Tage zwischen 30–37°), dann hielt sie sich beständig zwischen 30–32°.

Die Flüssigkeit der zur Analyse genommenen Kulturen wurde durch einen gewogenen Filter filtriert, auf welchen auch die Pilzdecke nach Auswaschung mit heißem Wasser gebracht wurde. Die ausgewaschene Pilzdecke wurde mit dem Filter zusammen bei einer Temperatur von 100° getrocknet und dann gewogen. Die filtrierte Flüssigkeit wurde zusammen mit dem Waschwasser bis auf 250 cem gebracht, und hiervon wurden die Portionen für die einzelnen Bestimmungen genommen. Das Ammoniak wurde durch Destillation mit Magnesia (oder Atzkalk) bei vermindertem Druck von 20–30 mm und bei Hindurchlassen eines Luftstromes bestimmt. Die Oxalsäure-Bestimmung geschah nach dem gewöhnlichen Verfahren in der mit Essigsäure angesäuerten und erhitzten Flüssigkeit durch Fällung mit chlor- oder essigsaurem Calcium. Der abgesetzte Niederschlag wurde abfiltriert, bei 105–110° getrocknet und gewogen. In den meisten Fällen wurde das auf diese Weise gewonnene Calciumoxalat durch Titrierung mit einer Permanganatlösung identifiziert. Das bei diesem Versuche gebrauchte Pepton, welches von der „Russischen Gesellschaft für Handel und Drogenwaren“ in Charkow erhalten wurde, unterschied sich bedeutend von dem gewöhnlich gebrauchten Pepton „Witte“. Es hatte eine hellbraune Farbe und den Geruch von gebranntem Horn, gab bei der Auflösung einen schwarzbraunen Niederschlag, und seine Lösung reagierte deutlich sauer auf Lackmus. Mit den Eigentümlichkeiten des Peptons hängen wahrscheinlich die verhältnismaßig niedrigen relativen Mengen des in den Kulturen gebildeten Ammoniaks (im Vergleich mit den früheren Kulturen auf dem Pepton-„Witte“) zusammen.

Die Flüssigkeit in den zur Analyse genommenen Kulturen der I. Serie (10 Tage) reagierte neutral oder schwach sauer (auf Lackmus), in den Kulturen der II. Serie (20 Tage) in 1 und 2 neutral und in 3 und 4 schwach alkalisch und in den Kulturen der III. (30 Tage) und der IV. Serie (40 Tage) deutlich alkalisch. Die Biuretreaktion war von der II. Serie an nicht nachzuweisen, aber Tannin gab einen bedeutenden Niederschlag (violetter Farbe) auch in den Kulturflüssigkeiten der IV. Serie.

Bezüglich der Kulturen der I. Serie muß man bemerken, daß auf dem 20 proz. Pepton das stark entwickelte Mycel eine dicke, faltige weiße Decke darstellte, auf welcher man nur stellenweise den Beginn der Conidienbildung nachweisen konnte. In den übrigen Kulturen derselben Serie mit geringerem Peptongehalt, wie auch in allen älteren Kulturen war die Pilzdecke schon vollständig mit Conidien bedeckt.

¹⁾ Die Ursache war das starke Schwanken des Gasdruckes in der Gasleitung.

In der weiter unten folgenden Tabelle I sind die Resultate der Analysen aller 4 Serien zusammengestellt und die Werte für das Verhältnis $\frac{\text{Oxalsäure}}{\text{N}_3\text{H}-\text{N}}$ angeführt, welche die Möglichkeit geben, darüber zu urteilen, wieweit das in den Kulturen vorhandene Verhältnis zwischen diesen Komponenten sich demjenigen nähert, welches dem neutralen Ammoniumoxalat entspricht. Für das letztere wird das angegebene Verhältnis durch den Wert 3,2¹⁾ ausgedrückt. In derselben Tabelle werden die Gewichtsverhältnisse der Pilzdecke zum Ammoniakstickstoff angegeben, — Verhältnisse, welche die Produktivität der mit diesem Vorgang verbundenen Ausnutzung der Kohlenstoffkomplexe des Peptons charakterisieren²⁾.

Tabelle I.

Serie	Kultur	Pilzdecke in g	Ammoniak-N		Oxalsäure C ₂ O ₄ H ₂ nach C ₂ O ₄ Ca·M ₂ O in mg	Oxal- säure NH ₃ - N	Pilz- decke NH ₃ - N	
			in mg	in % des Pepton- N*)				
I	10 Tage	1.	0,1665	81,60	50,93	227,92	2,89	2,04
		2.	0,3210	160,80	50,20	457,38	2,84	2,00
		3.	0,6240	313,20	48,88	897,80	2,87	1,99
		4.	1,0225	524,40	40,90	1389,08	2,65	1,95
II	20 Tage	1.	0,1610	85,20	53,11	231,77	2,72	1,89
		2.	0,2960	170,40	53,18	489,72	2,87	1,74
		3.	0,5320	343,20	53,56	979,45	2,74	1,55
		4.	0,8150	634,80	49,53	1851,85	2,92	1,28
III	30 Tage	1.	0,1525	87,60	54,68	239,47	2,73	1,74
		2.	0,2915	177,60	55,43	496,63	2,80	1,64
		3.	0,5160	354,00	55,24	1016,40	2,87	1,46
		4.	0,7635	669,60	52,25	1938,10	2,89	1,14
IV	40 Tage	1.**)	—	—	—	—	—	—
		2.	0,2680	186,00	58,05	542,10	2,91	1,44
		3.	0,4945	360,00	56,08	1045,65	2,90	1,37
		4.**)	—	—	—	—	—	—

*) Pepton enthielt 12,82% N.

**) Die Kulturen 1 und 4 der Serie IV wurden nicht analysiert.

Einige aus den Kulturen erhaltene Niederschläge von Calciumoxalat wurden der Titrierung mit Kaliumpermanganatlösung (Titer = 0,00446 g Oxalsäure auf 1 ccm) unterworfen. Im angegebenen Versuch wurde zur Fällung der Oxalsäure überhaupt nur Calciumacetat gebraucht, nur in den Kulturen der IV. Serie wurden parallele Bestimmungen der Oxalsäure mit Ersetzung des Calciumacetats durch Chlorcalcium gemacht. Die Resultate dieser Bestimmungen sind in der weiter unten folgenden Tabelle II unter der Rubrik a' angeführt. Der angegebene Ersatz verringerte ein wenig das Gewicht des Niederschlages, aber, wie die Titrierung durch das Chamäleon zeigt, veränderte nicht in ihm den Oxalsäuregehalt. Auf diese Weise gibt das Chlorcalcium offenbar ein reineres Oxalat als das Calciumacetat. Überhaupt haben alle Niederschläge einen derartigen Oxalsäuregehalt ($\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$) nachgewiesen, welcher ziemlich nahe demjenigen des Calciumoxalats entspricht (61,64%).

¹⁾ Die Oxalsäure wird als wasserfrei angenommen = $\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$.

²⁾ Vgl. Wl. Bulkewitsch, Ammoniak als Produkt der Umwandlung der Eiweißstoffe durch die Schimmelpilze und die Bedingungen zu seiner Bildung. (Sammelwerk, K. A. Timirjaseff gewidmet, 1916, S. 457 — russisch mit französischem Resumé).

Tabelle II.

Kulturen		Niederschläge v. $\text{Ca}(\text{C}_2\text{M}_2\text{O}_4)_2$ oder CaCl_2 (a') in mg	Beim Titrieren Permanganat- lösung ver- braucht ccm	Oxalsäure $\text{C}_2\text{O}_4\text{H}_2$ nach Titrieren mit Permanganatlösung	
				in mg	in % des Nieren- schlaggewichtes
III	1.	155,50	21,8	97,23	62,5
	2.	322,50	44,2	197,13	61,1
	3.	660,00	90,4	403,18	61,1
	4.	1258,50	171,5	764,89	60,8
IV	2. {	a) 156,00	23,4	104,36	59,3
	a' {	171,00	23,3	103,92	60,8
	3. {	a) 339,50	45,4	202,48	60,0
	a' {	333,50	45,5	202,93	60,8

Aus den in der Tabelle I angeführten Angaben ist zu ersehen, daß die Werte, welche das Verhältnis der Oxalsäure zum Ammoniakstickstoff ausdrücken, überall etwas hinter demselben im neutralen oxalsauren Ammoniaksalz (3,2) zurückstehen und ziemlich geringe Schwankungen (2,7—2,9) aufweisen. Was die zur Bildung des neutralen Salzes fehlenden Quantitäten der Oxalsäure anlangt, so werden sie, auf die Gesamtmenge der zur Neutralisierung des letzteren notwendigen Oxalsäure bezogen, durch zwischen 10—15% schwankende Werte ausgedrückt.

Das relative Übermaß des Ammoniaks im Vergleich zu der Oxalsäure in den jüngeren Kulturen mit sauer oder neutral reagierender Nährlösung weist auf das Vorhandensein anderer Säuren in ihnen außer der Oxalsäure hin. In solchen Kulturen bilden die Säuren sich wahrscheinlich unter anderem als Zwischenstufen der Umwandlung des Peptons bei der Desaminierung der aus demselben entstehenden Aminosäuren¹⁾. Auf die auf diese Weise in den Kulturen des *Asperg. niger* sich bildenden Säuren finden sich Hinweise in der Arbeit von *Raciborski*²⁾.

Was die älteren Kulturen anbetrifft, so findet sich in ihnen eine gewisse Menge von Ammoniak in von Säuren ungebundenem Zustande (als Ammoniumcarbonat), worauf die alkalische Reaktion ihrer Nährlösung hinweist. Aus der Flüssigkeit solcher Kulturen kann ein Teil des in ihr enthaltenen Ammoniaks ohne Hinzufügung von MgO abdestilliert werden, wobei die bei dieser Destillation in der Flüssigkeit verbleibende Quantität des Ammoniums derjenigen sehr nahe kommt, welche notwendig ist, um mit der in den Kulturen enthaltenen Oxalsäure das neutrale Salz zu bilden.

¹⁾ Wie schon oben erwähnt, reagierte das für die Kulturen benutzte Pepton selbst sauer. Durch diesen Säuregehalt des Peptons erklärt sich offenbar das verhältnismäßig bedeutende Übermaß von Ammoniak (im Vergleich zu der Oxalsäure) in den Kulturen I, 4 mit 20 proz. Peptongehalt.

²⁾ *M. Raciborski*, Bull. Acad. Cracovie. Cl. d. sc. math. et phys. 1906, S. 733.

Tabelle III.

Kulturen	Ammoniak-N			Oxalsäure c) NH_3 -N
	a) gesamt in mg	b) frei*) (durch Destillat. ohne MgO) in mg	c) gebunden (a-b) in mg	
III {	1. 87,60	15,00	72,60	3,30
	4. 669,60	26,40	643,20	3,01
IV {	2. 186,00	14,46	171,54	3,16
	3. 360,00	21,00	339,00	3,09

*) Die Werte, welche das freie Ammoniak angeben, können nicht auf große Genauigkeit Anspruch machen, da bei der Destillation die Dissoziation der Ammoniaksalze der organischen Säuren möglich ist. Die Destillation wurde unterbrochen, wenn das Destillat eine schwach alkalische Reaktion zeigte und die der Destillation unterworfenen Flüssigkeit neutral (auf Lackmus) reagierte.

Bei der Betrachtung der Tabelle I sehen wir, daß unter den Bedingungen, bei welchen der Versuch angestellt wurde, das Wachstum des Pilzes schon im Laufe der ersten 10 Tage (genauer 10–20 Tage) beendet war. In der folgenden Periode beobachtet man eine allmähliche Gewichtsabnahme der Pilzdecken, welche sich um so stärker bemerkbar macht, je höher der Peptongehalt in der Kultur ist.

Die Hauptmasse des in den Kulturen enthaltenen Ammoniaks, etwa 85–90% seiner Gesamtmenge in der 40tägigen Kultur, bildete sich in der ersten 10tägigen Periode, der Periode des Wachstums der Pilzdecke. Auf die ganze übrige Periode von 30 Tagen kommen nur 10–15%.

Die relative Anhäufung von Ammoniak in den Kulturen nach Perioden sieht man aus folgender Zusammenstellung für die Kulturen 2 und 3, für welche Analysen aller 4 Serien vorlagen. Das Anwachsen des Ammoniaks in den einzelnen 10tägigen Perioden, in welchen die Analysen gemacht wurden, ist im prozentualen Verhältnis zu der in den Kulturen in der ganzen 40tägigen Periode angehäuften Gesamtmenge desselben angegeben.

Tabelle IV.

Kultur/Serie	I	II	III	IV
2. (5% Pept.)	86,5%	5,1%	3,9%	4,5%
3. (10% ")	87,0%	8,3%	3,0%	1,7%

Was das Verhältnis $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3-\text{N}}$ anlangt, so erreicht es die Maximalgröße, etwa 2, in den Kulturen der ersten Serie. In den Kulturen der folgenden Serien, der Gewichtsabnahme der Pilzdecke und dem fortwährenden Anwachsen des Ammoniaks entsprechend, sinkt sein Wert allmählich mit dem anwachsenden Alter der Kulturen.

Der folgende Versuch (B) mit demselben *Asperg. niger* hatte zur Aufgabe, die Abhängigkeit der Ammonisationsproduktivität, die durch das Verhältnis $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{HN}_3 - \text{N}}$ charakterisiert wird, von der Temperatur zu ermitteln. Wenn die Ammonisation mit der Ausnutzung der bei der Desaminierung freigewordenen Kohlenstoffkomplexe durch den Pilz in Zusammenhang steht, so muß die größere oder kleinere Produktivität ihrer Ausnutzung natürlich auf das obengenannte Verhältnis im Sinne einer Vergrößerung oder Verkleinerung desselben einwirken. Für Zucker ist festgestellt worden, daß der „ökonomische Koeffizient“ seiner Ausnutzung durch den *Asperg. niger* sich mit der Temperatur verändert. Im Zusammenhang damit konnte eine entsprechende Veränderung bei verschiedenen Temperaturen auch in bezug auf das Verhältnis zwischen der Pilzdecke und dem Ammoniakstickstoff in den Kulturen auf Pepton erwartet werden.

In demselben Versuch mit verschiedenen Temperaturen ist auch der Einfluß des schwefelsauren Zinks versucht worden, welches, wie bekannt, den „ökonomischen Koeffizienten“ der Ausnutzung einiger stickstofffreier Stoffe bedeutend verändert. Im gegebenen Falle übte ZnSO_4 in den Kulturen auf Pepton keinerlei Einfluß aus. Im Zusammenhang mit diesem Resultat befindet sich die Angabe von *Richards*¹⁾, daß in den Kulturen von *Asperg. niger* der Ersatz des Ammoniumnitrats als Stickstoffquelle durch Albumose die Reizwirkung des Zinks stark verringert.

Versuch B. Es waren 12 Kulturen von *Asperg. niger* auf 5proz. Peptonlösung mit der gewöhnlichen Salzmischung (0,15%) aufgestellt, und zwar in 6 Kulturen ohne Zink und in 6 mit Hinzufügung von 0,02% Zinksulfat. Für jede Kultur wurden je 50 cem genommen. Alle Kulturen wurden in 3 Gruppen zu je 4 Kulturen in jeder (2 mit Zn und 2 ohne Zn) geteilt, und diese Gruppen wurden im Polythermostat bei folgenden Temperaturen verteilt: 1. 18–20°, 2. 29–31° und 3. 35 bis 37°.

Die erste Serie der Kulturen, welche je 2 Kulturen (mit Zn und ohne Zn) aus jeder Gruppe enthielt, wurde nach 6 Tagen, die übrigen Kulturen nach 15 Tagen zur Analyse genommen.

Die Analyse der Kulturen wurde ebenso wie in dem vorhergehenden Versuche ausgeführt. Die Oxalsäure wurde durch Fällung mit Chlorcalcium bestimmt, wobei die Bestimmung derselben nur in den Kulturen ohne Zink erfolgte.

Das Verhältnis der Oxalsäure zum Ammoniakstickstoff nähert sich in allen Kulturen demjenigen, welches dem neutralen Ammonium-

¹⁾ *H. M. Richards*, Jahrb. f. wiss. Botan. **30**, 665. 1897. Vgl. *M. Lafars*, Techn. Mykol. **1**, 1904–07. *W. Benecke*, Allgem. Ernährungsphysiologie, S. 343.

Tabelle V.

Dauer der Kultur	Temperatur	Kul- turen	Pilzdecke in g	Ammoniak-N		Oxalsäure C ₂ O ₄ M ₂ nach C ₂ O ₄ Ca·M ₂ O in mg	Oxalsäure NH ₃ -N	Pilzdecke NH ₃ -N
				in mg	in % des Pepton- N*)			
I.	18—20°	1	0,2060	84,60	26,81	205,59	2,43	2,44
		1'**)	0,1705	55,80	17,68	—	—	3,06
		2	0,2700	143,40	45,44	430,73	3,00	1,88
	29—31°	2'	0,2630	143,40	45,44	—	—	1,83
		3	0,2260	149,40	47,34	505,12	3,38	1,51
	35—37°	3'	0,2390	150,00	47,53	—	—	1,59
II.	18—20°	1	0,3195	151,80	48,10	460,46	3,03	2,10
		1'	0,3095	153,60	48,66	—	—	2,01
		2	0,2710	165,00	52,28	480,48	2,91	1,64
	29—31°	2'	0,2720	166,20	52,66	—	—	1,64
		3	0,2195	176,40	55,99	525,14	2,98	1,24
	35—37°	3'	0,2960	177,60	56,27	—	—	1,16

*) 50 cc. der 5proz. Peptonlösung enthielten 315,60 mg N.

**) 1', 2' und 3' die parallelen Kulturen mit ZnSO₄.

oxalat entspricht. Eine Ausnahme bildet nur die jüngste Kultur I, 1¹⁾, in welcher der relativ niedrige (im Vergleich mit NH₃) Oxalsäuregehalt durch den Einfluß der Acidität des zur Kultur gebrauchten Peptons sich erklären läßt (siehe darüber im vorhergehenden Versuch).

Wie man aus den in der Tabelle angeführten Angaben sieht, übte das schwefelsaure Zink gar keinen Einfluß aus. Alle Angaben für die Kulturen mit Zink stimmen vollständig mit den für die parallelen Kulturen ohne Zink überein. Infolgedessen nehmen wir für diese Kulturen die mittleren Zahlen, welche in der weiter unten folgenden Tabelle angeführt werden.

Tabelle VI.

Kulturen	I. 6 Tage				II. 15 Tage			
	Pilzdecke in g	Ammoniak-N		Pilzdecke NM ₃ -N	Pilzdecke in g	Ammoniak-N		Pilzdecke NM ₃ -N
		in mg	in % des Pepton-N			in g	in % des Pepton-N	
1. (16°)	0,1883	70,29	22,25	2,75	0,3145	152,70	48,38	2,06
2. (30°)	0,2665	143,70	45,44	1,86	0,2715	165,69	52,47	1,64
3. (36°)	0,2325	149,70	47,44	1,55	0,2128	177,00	56,09	1,20

In der I. Serie (6 Tage) hat die Kultur 2 (30°) das höchste Pilzdeckengewicht, aber für das die Ammonisationsproduktivität charakterisierende Verhältnis gibt die Kultur 1 (19°) den höchsten Wert, welcher hier für *Asperg. niger* sehr hoch 2,75, ist. In der Kultur 3 ist, im Vergleich zu 2, sowohl das Gewicht der Pilzdecke als auch das Verhältnis derselben zum Ammoniakstickstoff (1,55) niedriger.

¹⁾ Das Mycel dieser Kultur bildete eine weiße conidienlose Decke, während die der übrigen Kulturen reichlich mit schwarzen Conidien bedeckt waren.

In der II. Serie (15 Tage) steht dem Mycelgewicht nach schon die Kultur 1 an der ersten Stelle, und sie hat auch den Maximalwert für das Verhältnis $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3 - \text{N}} = (2,06)$. Dieses Verhältnis verringert sich allmählich, wie auch in der I. Serie, von der Kultur 1 zur 3., für welche sie bis auf 1,20 sinkt.

Beim Vergleich der I. und II. Serie sehen wir, daß in allen Kulturen mit dem höheren Alter ein Sinken des Verhältnisses $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3 - \text{N}}$ beobachtet wird. Ein besonderes Interesse bietet im gegebenen Falle die Kultur 1, in welcher das Mycel bis zum Ende des Versuchs (15 Tage) im Zustande der Entwicklung blieb. Die Kultur 1 der II. Serie wurde zur Analyse in der Periode der noch nicht beendeten Conidienbildung genommen. Die für diese Kultur gewonnenen Angaben zeigen, daß auch in der Periode der Mycelentwicklung der Wert des erwähnten Verhältnisses in den verschiedenen Stadien derselben nicht beständig bleibt und die Tendenz zum Sinken zugleich mit dem Steigen der Kulturdauer zeigt.

Auf diese Weise sieht man aus den Resultaten des hier erörterten Versuchs, daß das Verhältnis $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3 - \text{N}}$ mit der Erhöhung sowohl der Kulturdauer als auch der Temperatur (in den Grenzen der versuchten Temperaturen 19–36°) sinkt. Dieselbe Abhängigkeit von der Kulturdauer und der Temperatur weist auch der „ökonomische Koeffizient“ auf, welcher die Produktivität der Ausnutzung der stickstofffreien Stoffe (wie z. B. des Zuckers) durch den Pilz ausdrückt¹⁾.

Dieser Parallelismus spricht dafür, daß der Ammonisations- oder Desaminierungsvorgang in enger Verbindung mit der Ausnutzung der Kohlenstoffkomplexe des Peptons durch den Pilz steht. Hier bestätigt sich folglich die Anschauung von neuem, daß der Desaminierungsvorgang eine Vorstufe zur Ausnutzung der Primärprodukte des Eiweißzerfalls als Kohlenstoffquelle vorstellt — eine Vorstufe, auf welcher sie aus dem Trägheitszustand in den physiologisch aktiven übergeführt werden²⁾.

¹⁾ Vgl. *Knastmann*, Verhältnis zwischen Pilzernte und verbrauchter Nahrung. Inaug.-Diss. Leipzig 1892. Zitiert nach *Josts Pflanzenphysiologie*. Den Ausdruck „ökonomischer Koeffizient“ brauchen wir in dem Sinne, welchen ihm *W. Pfeffer*, der ihn zuerst im Gebrauch eingeführt hatte, gab, d. h. im Sinne des Gewichtsverhältnisses der Pilzdecke zum bei ihrer Entwicklung verbrauchten Stoffe (vgl. *W. Pfeffer*, *Jahrb. f. wiss. Botan.* 28, 205. 1895). In der Folge verbanden andere Autoren nicht selten mit diesem Ausdruck einen das umgekehrte Verhältnis bezeichnenden Wert.

²⁾ Vgl. *Wl. Butkewitsch*, *Sammelwerk, K. A. Timirjaseff* gewidmet, Moskau, 1916, loc. cit.

Zusammenfassung.

Das Verhältnis der Oxalsäure zum Ammoniak in den Kulturen von *Asperg. niger* auf Pepton kommt dem ziemlich nahe, welches dem neutralen Ammoniumoxalat entspricht. Gewöhnlich zeigt es einige Abweichung vom letzteren in der Richtung eines relativen Ammoniakübermaßes und Oxalsäuremangels (ca. 10%).

Eine solche Abweichung für die jüngeren Kulturen mit sauer oder neutral reagierender Flüssigkeit erklärt sich durch Anwesenheit von anderen Säuren neben der Oxalsäure, z. B. von solchen, die sich als Zwischenstufe der Stoffumwandlung bei der Desaminierung der Aminosäuren bilden; für die älteren Kulturen mit alkalischer Reaktion — durch die Anwesenheit von durch Säuren nicht gebundenem, freiem Ammoniak (genauer Ammoniumcarbonat).

Die Hauptmasse des sich in den Kulturen von *Asperg. niger* auf Pepton anhäufenden Ammoniaks bildet sich in der ersten Periode — der Periode der Entwicklung (des Zuwachses) der Pilzdecke. In der folgenden Periode, wenn die Pilzdecke schon keinen Zuwachs gibt oder eine Verminderung aufweist, dauert die Ammoniakzunahme zwar fort, geht aber äußerst langsam, im Vergleich mit der ersten Periode, vor sich. Bei den Bedingungen unseres Versuches bildeten sich ca. 90% des sich in der 40tägigen Kultur anhäufenden Ammoniaks in den ersten 10 Tagen.

Wenn man die Werte des die „Ammonisationsproduktivität“ charakterisierenden Verhältnisses $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3 - \text{N}}$ nach denselben Perioden zusammenstellt, so ist auch für sie die größte Bedeutung an die erste Periode gebunden. In den älteren Kulturen verringert sich dies Verhältnis allmählich nach Maßgabe des wachsenden Kulturalters, entsprechend der Verminderung des Pilzdeckengewichts und des fort-dauernden Ammoniakzuwachses, wobei diese Verringerung desto schneller vor sich geht, je höher der Peptongehalt in der Kultur (entsprechend der stärkeren Verminderung des Pilzdeckengewichts in diesen Kulturen) ist.

Wenn wir uns nur auf die erste Periode (die Periode der Pilzdeckenentwicklung) beschränken, so bleibt auch in seinen Grenzen das Verhältnis der Pilzdecke zum Ammoniakstickstoff nicht konstant. Sein Wert verringert sich auch im Laufe dieser Periode mit dem wachsenden Kulturalter (Versuch B, die Kulturen I, 1 und II, 1).

Was den Einfluß der Temperatur auf die „Ammonisationsproduktivität“ anlangt, so stellt sich in den versuchten Temperaturgrenzen (19–36°) eine ganz bestimmte Abhängigkeit heraus, welche sich in der allmählichen Verringerung des Verhältnisses $\frac{\text{Pilzdecke}}{\text{NH}_3 - \text{N}}$ nach Maßgabe der Temperaturerhöhung ausdrückt.

Dieselbe Abhängigkeit vom Kulturalter und der Temperatur, welche für das die Ammonisationsproduktivität charakterisierende Verhältnis Pilzdecke $\text{NH}_3\text{—N}$ festgestellt ist, weist auch der „ökonomische Koeffizient“ auf, welcher die Produktivität der Ausnutzung der stickstofffreien Stoffe, z. B. Zucker, durch den Pilz charakterisiert.

Dieser Parallelismus erweist sich als ein neues Argument zugunsten der von mir früher ausgesprochenen Ansicht über den engen Zusammenhang zwischen dem Desaminierungsvorgang einerseits und der Ausnutzung der Kohlenstoffkomplexe des Peptons durch den Pilz andererseits.

Der Zusatz von Zinksalz (ZnSO_4 - 0,02%) zu der Nährlösung übte bei allen versuchten Temperaturen (19–36°) gar keinen Einfluß auf die Ausnutzung des Peptons durch den Pilz aus. Das Pilzdeckengewicht und die Quantitäten des sich bildenden Ammoniaks blieben sowohl mit Zink als auch ohne dasselbe unverändert. Der für *Asperg. niger* und einige andere Pilze festgestellte Einfluß von Zinksalzen im Sinne der Beschleunigung der Mycelentwicklung und die Erhöhung des „ökonomischen Koeffizienten“ scheint offenbar nur bei der Ausnutzung einiger Kohlenstoffquellen, z. B. der Kohlenhydrate und einiger ihnen nahestehender Verbindungen spezifisch zu sein.

Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die Citromyces-Arten.

Von
Wl. Butkewitsch.

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Laboratorium des land- und forstwissenschaftlichen Instituts Charkow, Rußland.)

(Eingegangen am 7. Februar 1922.)

Zu den weiter unten beschriebenen Versuchen mit den *Citromyces*-Arten kam ich während meiner Bemühungen, andere Pilze außer *Aspergillus niger* zu finden, welche die für letzteren charakteristische Eigentümlichkeit besitzen, eine Säure bei der Entwicklung auf Pepton anzuheften und das sich dabei bildende Ammoniak zu binden. Bei diesen Nachforschungen war es natürlich, sich unter anderem auch zu der Gruppe der Citromyceten zu wenden, zu welcher die Pilze mit der scharf ausgesprochenen Fähigkeit, große Quantitäten von Säuren unter gewissen Kulturbedingungen anzuheften, gehören. Freilich wurde die Bildung der Citronensäure durch diese Pilze bisher nur in den Kulturen mit Kohlenhydraten oder einigen vielwertigen Alkoholen (Glycerin, Mannit) nachgewiesen¹⁾. Was die Eiweißstoffe anbetrifft, so gibt es für sie gar keine Angaben, welche bestimmt für oder wider die Fähigkeit der *Citromyces*-Arten, die Citronensäure auf ihnen zu bilden, sprechen²⁾.

Die Möglichkeit der Bildung von Citronensäure auf Kosten der Eiweißstoffe überhaupt galt nicht für ausgeschlossen. Darauf weisen die von Mazé und Perrier³⁾ entwickelte Theorie der proteolytischen Entstehung der Citronensäure und das Verhalten von Buchner und Wüstenfeld⁴⁾ zu dieser Theorie hin, über welche sie sich als über „eine

¹⁾ Die Angaben von Mazé und Perrier (*P. Mazé* und *A. Perrier*, *Ann. de l'inst. Pasteur* **18**, 553, 1904) über die Citronensäurebildung auf Kosten des Äthylalkohols, an sich bereits zweifelhaft, konnten bei den folgenden Untersuchungen durchaus nicht bestätigt werden. Vgl. *R. O. Herzog* und *A. Polotsky*, *Zeitschr. f. physiol. Chemie* **59**, 125. 1909 und *C. Wehmer*, *Chem.-Zeitung* 1913, 1393.

²⁾ Über die Kultur von *Citromyces* auf Eiweißstoffen gibt es fast keine Angaben in der Literatur. Bloß in einer der Arbeiten von Wehmer (*K. Wehmer*, *Chem.-Zeitung* 1913, S. 37) gelang es mir einen flüchtigen Hinweis, daß die Citromyceten sich auf Pepton nur schwach entwickeln, zu finden.

³⁾ *P. Mazé* und *A. Perrier*, loc. cit.

⁴⁾ *Ed. Buchner* und *H. Wüstenfeld*, *Bioch. Zeitschr.* **17**, 395. 1909.

sehr interessante Annahme“ aussprechen¹⁾. Als ich meine Versuche mit den *Citromyces*-Kulturen auf Pepton in Angriff nahm²⁾, war also die Lage der Frage über das Verhalten der Citronensäure zu den Eiweißstoffen eine solche, daß man die Bildung dieser Säure auf Pepton erwarten konnte. Man hatte keinen Grund, die Anhäufung anderer Säuren anzunehmen, da in der Literatur keinerlei Angaben über die Fähigkeit der Citromyceten, irgendwelche andere Säuren außer der Citronensäure zu bilden, sich fanden. In ihrer der Citronensäuregärung gewidmeten Arbeit weisen Buchner und Wüstenfeld darauf hin³⁾, daß sowohl sie als auch Wehmer und Mazé festgestellt haben, daß die *Citromyces* aus Zucker keine anderen Produkte außer Citronensäure und Kohlendioxyd in irgendwie bedeutender Menge bilden. Weiter bemerken die obengenannten Autoren, daß von ihnen das Fehlen von Äthylalkohol, Essigsäure, Milchsäure, Oxalsäure und Bernsteinsäure besonders festgestellt worden ist.

Versuche mit Kulturen von *Citromyces glaber* und *Citromyces citricus* auf Pepton.

Für die Versuche mit den Kulturen auf Pepton wurden *Citromyces glaber* (Wehmer) und *Citromyces citricus* (Mazé) genommen.

Bei diesen Versuchen wurde eine Lösung von Pepton-Witte⁴⁾ gebraucht, welcher die gewöhnliche Salzmischung (0, 15%, ohne Zn) und eine gewisse Menge Phosphorsäure zur Ansäuerung⁵⁾ zugesetzt wurde.

Als Vorversuch wurden 2 Reihen von Kulturen auf Peptonlösungen 1. 2½% und 2. 8¾% aufgestellt. Für jede Kultur wurden je 30 ccm Nährlösung genommen. Neben den beiden *Citromyces*-Arten wurden parallel auf denselben Nährlösungen zum Vergleich auch die Kulturen von *Asperg. niger* aufgestellt. In allen Kulturen entwickelten sich gute, ziemlich starke Decken, welche sich in kurzer Zeit mit Conidien bedeckten. Nach 12 Tagen wurden die Kulturen zur Analyse genommen, bei welcher das Gewicht der getrockneten Pilzdecken und die Ammoniakquantitäten bestimmt wurden. Diese Bestimmungen wurden nur für die Kulturen von *Asperg. niger* und *Citromyces glaber* gemacht.

¹⁾ Weder Mazé und Perrier, noch Buchner und Wüstenfeld haben den Versuch gemacht, die Lösung der Frage auf experimentellem Wege durch die Kultur von *Citromyces* auf Eiweißstoffen in Angriff zu nehmen. Bei Buchner und Wüstenfeld findet sich im Zusammenhang mit der Beurteilung der Theorie von Mazé nur ein Hinweis auf den negative Resultate ergebenden Versuch mit *Leucin*, welcher keine direkte Beziehung zu der hier erörterten Frage hat. Die Autoren versuchten die Bildung von Amylalkohol in den Kulturen von *Citromyces* auf *Leucin* nachzuweisen.

²⁾ Sommer 1917.

³⁾ Ed. Buchner und H. Wüstenfeld, loc. cit.

⁴⁾ Das in den früheren Versuchen mit *Asperg. niger* gebrauchte Pepton erwies sich als wenig tauglich für die Kulturen mit *Citromyces*, die sich auf ihm bedeutend schlechter als auf Pepton-Witte entwickelten.

⁵⁾ Die Lösung von Pepton-Witte hatte alkalische Reaktion. Auf 100 ccm 10proz. Lösung wurde 0,25 g H₃PO₄ hinzugefügt. Die Lösungen von niedrigeren Konzentrationen wurden aus 10proz. Lösung durch entsprechende Verdünnung erhalten. — Das Pepton enthielt 14,40% Stickstoff.

Tabelle I.

	Pepton %	Tem- peratur in °	Reaktion der Kul- turfliisigkeit (auf Lackmus)	Pilzdecke in g	Ammoniak-N	
					in mg	in % des Pepton-N
Asperg. niger {	2 ¹ ₄	30	sauer	0,1715	72,86	67,46
	8 ³ ₄	30	"	0,5760	233,38	61,74
Citrom. glaber {	2 ¹ ₄	30	neutr.	0,1160	70,75	65,51
	8 ³ ₄	25	"	0,4725	225,46	60,40

Sowohl nach dem Pilzdeckengewicht als auch nach der Ammoniakquantität kommen die Kulturen von *Citromyces* denen von *Asperg. niger* sehr nahe. Der reichliche Ammoniakgehalt in der Flüssigkeit der *Citromyces*-Kulturen bei neutraler Reaktion zeigte die Anwesenheit der das Ammoniak bindenden Säure in derselben an. Was die Natur der Säure anbetrifft, so zeigte sich auch in diesem Punkte die Übereinstimmung mit *Asperg. niger*. Die Säure erwies sich nicht als Citronen- sondern als Oxalsäure.

In der mit Essigsäure angesäuerten Flüssigkeit der Kulturen von *Citrom. glaber* und ebenfalls in der nicht analysierten von *Citrom. citricus* ergab das Chlorcalcium einen reichlichen, für die Oxalsäure charakteristischen Niederschlag. Die auf diese Weise aus den Kulturflüssigkeiten von *Asperg. niger* und den beiden *Citromyces*-Arten ausgeschiedenen Niederschläge wurden aus einer Salzsäurelösung umgefällt und in bei 105–110° getrockneten, abgewogenen Portionen wurden 1. das Calciumoxyd durch Verbrennen und Ausglühen und 2. die Oxalsäure durch Titrieren mit einer Permanganatlösung (Titer derselben 0,0045 g $C_2O_4H_2$ auf 1 ccm) bestimmt.

Tabelle II.

	Für Analyse ge- nomm. g	Nach Ver- brennen und Durchglühen CaO		Für Analyse ge- nomm. g	Permanga- natlösung verbraucht ccm	Oxalsäure $C_2O_4H_2$ nach Titrieren mit Permanganat	
		g	%			g	%
$C_2O_4Ca \cdot M_2O$ enthält nach Rechnung			38,36				61,64
Im Nieder- schlag von Kultur- flüssigkeit gefunden {	<i>Asp. niger</i> .	0,9530	0,3690	38,72	0,4155	57,0	0,2565 61,73
	<i>Citr. glaber</i> .	0,9424	0,3654	38,77	0,4625	63,2	0,2844 61,50
	<i>Citr. citricus</i>	0,5220	0,2020	38,70	0,3898	53,2	0,2394 61,42

Die in der Tabelle II angeführten Angaben stellen mit völliger Bestimmtheit fest, daß die Säure, welche sich in den Kulturen von *Citromyces* auf Pepton bildet und anhäuft, die Oxalsäure ist.

In den weiteren Versuchen machte ich mir zur Aufgabe, die Frage über die Anhäufung der Oxalsäure in den *Citromyces*-Kulturen auf Pepton in quantitativer Hinsicht zu beleuchten und vor allem ihre Beziehung zu dem in denselben Kulturen sich bildenden Ammoniak klarzustellen.

Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von *Citromyces glaber* und *Citromyces citricus* auf Pepton.

Bei diesen Versuchen wurde für die Kulturen die Lösung von Pepton-Witte¹⁾ mit demselben Salz- und Phosphorsäuregehalt wie in dem vorigen gebraucht. Der Peptongehalt in den Nährlösungen, die Kulturdauer und die Temperatur bei den Versuchen sind in den Tabellen angegeben.

Die Analyse der Kulturen wurde ebenso wie in den früher beschriebenen Versuchen mit *Asperg. niger*²⁾ ausgeführt. Die Oxalsäure wurde durch Chlorcalcium gefällt und in den meisten Fällen nach dem Gewicht des Calciumoxalats bestimmt. In einigen Fällen wurde das Wägen durch Titrieren des in Schwefelsäure gelösten Niederschlages mit Kaliumpermanganat begleitet. Da die Werte, welche für die Oxalsäure durch das eine und das andere Verfahren gewonnen wurden, gewöhnlich einander sehr nahe kamen, so wurde sie in einigen Fällen direkt in nicht getrockneten Niederschlägen durch Titrierung mit Chamäleonlösung bestimmt.

Für jede Kultur wurden bei diesen Versuchen je 30 ccm Nährlösung genommen.

Tabelle III.

Pilzart	Pepton %	Tempe- ratur in	Pilzdecke g	Ammoniak-N		Oxalsäure		Oxalsäure NH ₃ - N	Pilzdecke NH ₃ - N	
				in mg	in % des Pepton-N	nach Gewicht C ₂ O ₄ Ca · M ₂ O in mg	nach Titrieren mit Permang. in mg			
I. Dauer der Kulturen 15 Tage.										
<i>Citromyces glaber</i>	1. 2.5	{	a) 20	0.1695	69.12	64.0	190.34	184.64	2.75	2.45
			b) 25	0.1325	67.68	62.7	189.42	181.97	2.80	1.96
			c) 30	0.1200	77.76	72.0	213.44	207.39	2.74	1.54
	2. 5.0	{	b) 25	0.1775	66.24	39.7	135.83	133.80	2.05	2.68
			c) 30	0.1715	70.20	32.5	140.45	139.15	2.00	2.44
II. Dauer der Kulturen 30 Tage.										
<i>Citromyces glaber</i>	1. 2.5	{	a) 20	0.1210	74.16	68.7	—	195.35	2.63	1.63
			b) 25	0.1015	74.16	68.7	—	192.67	2.60	1.37
			c) 30	0.0800	81.36	75.3	—	214.08	2.63	0.98
	2. 5.0	{	a) 20	0.2550	126.72	58.7	—	330.49	2.61	2.01
	I. Dauer der Kulturen 15 Tage.									
<i>Citromyces citricus</i>	1. 2.5	{	a) 20	0.1180	57.60	53.3	136.75	—	2.37	2.05
			b) 25	0.1180	61.96	57.4	157.08	—	2.54	1.90
			b) 25	0.2585	98.64	45.7	277.20	—	2.81	2.62
	2. 5.9	{	c) 30	0.2460	95.40	44.2	264.26	—	2.77	2.58
			b) 25	0.5500	210.96	48.8	580.27	568.65	2.75	2.61
	3. 10.0									
II. Dauer der Kulturen 30 Tage.										
<i>Citromyces citricus</i>	1. 2.5	a) 20	0.0990	69.84	64.7	192.19	189.10	2.75	1.42	
	3. 10.0	b) 25	0.3810	296.64	68.7	830.98	809.94	2.80	1.29	

¹⁾ Das Pepton enthielt 14.40% Stickstoff.

²⁾ Diese Zeitschr. **129**, S. 445.

Betreffs der Reaktion der Kulturflüssigkeiten (auf Lackmus) wurden folgende Angaben ermittelt.

<i>Citromyces glaber</i>			<i>Citromyces citricus</i>		
	I.	II.		I.	II.
1. { a)	schw. sauer	neutral	1. { a)	st. alkal.	alkal.
{ b)	„ alkal.	schw. alkal.	{ b)	„ „	—
{ c)	alkal.	alkal.	{ c)	schw. „	—
2. { a)	—	neutral.	2. { a)	„ „	—
{ b)	st. alkal.	—	{ b)	„ „	st. alkal.
{ c)	„ „	—	{ c)	„ „	—

Die Identifizierung einiger durch Fällung mit Chlorcalcium aus den Kulturen ausgeschiedenen Niederschläge durch Titrierung mit Chamäleonlösung (Titer = 0,00446 g Oxalsäure auf 1 ccm) ergab folgende Resultate.

Tabelle IV.

Kulturen	Niederschlag von CaCl_2 in mg	Beim Titrieren Permanganatlösung verbraucht ccm	Oxalsäure $\text{C}_2\text{O}_4\text{M}_2$ nach Titrieren mit Permanganat	
			in mg	in % des Niederschlags
<i>Citromyces glaber</i>	I { 1 { a)	103,00	61,55	59,8
		102,50	60,66	59,1
		115,50	69,13	60,0
	2 { b)	73,50	44,60	60,7
		76,00	46,38	61,0
		—	—	—
<i>C. citricus</i>	I { 3 b)	314,00	189,55	60,4
	II { 1 a)	156,00	94,55	60,6
	{ 3 b)	674,50	404,97	60,1

Alle die den Prozentgehalt der Oxalsäure in den Niederschlägen ausdrückenden Zahlen sind etwas niedriger als der Wert, welcher dem Gehalt derselben im Calciumoxalat entspricht (61,64%). Vielleicht ist das dadurch bedingt, daß die Niederschläge eine gewisse Menge Phosphat enthielten¹⁾. Das ist besonders wahrscheinlich infolge der in den Kulturflüssigkeiten in bedeutender Menge enthaltenen Phosphorsäure, welche denselben zwecks Beseitigung der alkalischen Reaktion des Peptons zugesetzt wurde. Wenn wir uns zum Verhältnis zwischen Oxalsäure und Ammoniak wenden, so finden wir, daß es nirgends in den *Citromyces*-Kulturen den Wert erreicht, welcher ihm im neutralen Ammoniumoxalat (3,2) entspricht. Wie gewöhnlich bei *Asperg. niger* bleibt es auch hier hinter diesem Werte zurück, wobei die Abweichung auf die Seite eines relativen Ammoniakübermaßes und Oxalsäuremangels bei *Citromyces* größer ist als bei *Asperg. niger*. Im Zusammenhang damit befindet sich das schnellere Auftreten der alkalischen Reaktion in den *Citromyces*-Kulturen und die stärkere Entwicklung der Alkalität mit dem wachsenden Alter derselben.

¹⁾ Vgl. C. Wehmer, Bot. Zeitung 49, 233. 1891.

Wenn man von vier dem Oxalsäuregehalt nach bedeutend von den übrigen abweichenden Kulturen (I, 2b und c für *Citrom. glaber* und I, 1a und b für *Citrom. citricus*) absieht, so wird der Oxalsäuremangel, in Prozent der zur Neutralisierung des gesamten in der Kultur enthaltenen Ammoniaks nötigen Quantität, durch Werte ausgedrückt, welche in engen Grenzen, und zwar für *Citrom. glaber* 16–19% und für *Citrom. citricus* 12–14%, schwanken.

In den Schwankungen dieser Werte findet sich kein bestimmter Zusammenhang mit den Angaben über die Reaktion der Kulturflüssigkeiten, und man kann annehmen, daß der Oxalsäuremangel in den Kulturen auf Pepton wie bei *Asperg. niger*¹⁾ so auch bei *Citromyces* teils durch die Anwesenheit von freiem (kohlen saurem) Ammoniak, teils durch das Vorkommen anderer Säuren, außer der Oxalsäure, bedingt wird²⁾.

Die nähere Bekanntschaft mit den Besonderheiten des Verhältnisses zwischen der Mycelentwicklung und der Ammoniakanhäufung bei *Citromyces* führt uns zu dem Schlusse, daß dieselben Erscheinungen, welche durch unsere früheren Versuche für *Asperg. niger* festgestellt wurden, sich auch hier finden. Einzelne Verhältnisse zeigen sich aber bei *Citromyces* mit geringerer Bestimmtheit, was besonders *Citrom. citricus* betrifft.

In bezug darauf muß man bemerken, daß überhaupt die Resultate der Kulturen auf Pepton für *Citromyces* sich durch geringere Beständigkeit als für *Asperg. niger* auszeichnen. Das erklärt sich dadurch, daß bei *Citromyces* (besonders bei *Citrom. citricus*) der Einfluß der „zufälligen Umstände“, welche mit der geringeren Stabilität der Pilzdecke zusammenhängen, schärfer hervortritt. In den Kulturen von *Citromyces* entwickelt sich die Pilzdecke verhältnismäßig langsam und schließt sich nicht so leicht zusammen. Nicht selten bekommt sie Risse, wobei sie entweder vollständig oder teilweise in der Flüssigkeit untersinkt. Diese Umstände haben einen wesentlichen Einfluß auf die Resultate der Kulturen, indem sie größere oder kleinere Veränderungen in denselben im Zusammenhang mit dem Grade ihrer Einwirkung hervorrufen. Wie bedeutend solche unvorhergesehene Einwirkungen sind, kann man aus den oben angeführten Tabellen sehen, in welchen die Resultate der Analysen von den *Citromyces*-Kulturen zusammengestellt sind. Wie aus den Kulturbezeichnungen zu ersehen ist, sind nicht alle Kulturen, mit

¹⁾ Vgl. diese Zeitschr. I. c.

²⁾ Was die oben erwähnten 4 Kulturen anbetrifft, die von den übrigen durch einen verhältnismäßig niedrigen Oxalsäuregehalt und eine stark alkalische Reaktion (vgl. die oben angeführten Angaben über die Reaktion der Kulturflüssigkeiten) abweichen, so haben wir keinen Anhalt für die Erklärung der Ursachen dieser Abweichung, da die Kulturen in dieser Richtung nicht näher untersucht worden sind.

denen die Versuche angestellt wurden, in den Tabellen angeführt. Mehrere von ihnen wurden, als von der normalen Entwicklung abweichend, ausgeschlossen und der Analyse nicht unterworfen. Besonders viele von solchen Kulturen waren bei dem Versuche mit *Citromyces citricus*.

Bei der Feststellung des Verhältnisses zwischen der Pilzdeckenentwicklung und der Ammoniakanhäufung werden wir hauptsächlich die Angaben des Versuchs mit *Citrom. glaber* benutzen, da diese ein vollständigeres und sichereres Material bieten.

Der Vergleich der Ammoniakmengen in den Kulturen 1a, b und c der Serie I (15 Tage) und der Serie II (30 Tage) stellt die schon für *Asperg. niger* angegebene Tatsache fest, daß die Hauptmenge des Ammoniaks in den Peptonkulturen in der ersten Periode — der Entwicklungsperiode — gebildet wird. Für die obengenannten Kulturen von *Citrom. glaber* werden die Stickstoffquantitäten des in der ersten, 15tägigen Periode gebildeten Ammoniaks im Verhältnis zum Peptonstickstoff durch folgende Zahlen ausgedrückt: a) 64,0%, b) 62,7% und c) 72,0%. Der Zuwachs des Ammoniakstickstoffs für die folgende 15tägige Periode aber beträgt, denselben Prozentsen entsprechend, 4,7, 6,0 und 3,3. Wenn wir dieselben Werte in Prozentsen zum gesamten Ammoniakstickstoff in den 30tägigen Kulturen ausdrücken, so erhalten wir:

1 (2,5% Pepton)	a) (20°)	b) (25°)	c) (30°)
I. für die ersten 15 Tage	93,2	91,3	95,6
II. für die folgenden 15 Tage . .	6,8	8,7	4,4

Dieselbe zum Versuche mit *Citrom. glaber* gehörende Tabelle (III) gibt ebenfalls Material für die Feststellung der Abhängigkeit des Verhältnisses zwischen Pilzdecke und Ammoniakstickstoff von der Kulturdauer und Temperatur. Dieses Material geben die Kulturen 1a, b und c, welche wir soeben benutzt haben. Im Zusammenhang mit der Veränderung der Kulturdauer und der Temperatur zeigen sich bedeutende Schwankungen in dem das Verhältnis Pilzdecke: $\text{NH}_3\text{-N}$ ausdrückenden Werte. Während derselbe in der 15tägigen Kultur bei 20° fast 2,5 erreicht, sinkt er bei Erhöhung der Kulturdauer bis auf 30 Tage und der Temperatur bis auf 30°, unter 1. Die Veränderungen dieses Wertes zeigen im Zusammenhang mit der Veränderung der Bedingungen eine regelmäßige Stufenfolge, welche man an der Hand der umstehenden Tabelle verfolgen kann. Zum Vergleich werden parallel auch die bei dem Versuch mit *Asperg. niger* früher erhaltenen Angaben¹⁾ angeführt.

Dieselbe Tendenz zum Sinken des Verhältnisses mit dem Steigen der Temperatur und Kulturdauer, wie aus der Tabelle III ersichtlich, zeigt sich auch bei *Citrom. citricus*.

¹⁾ Wl. Butkewitsch, diese Zeitschr. I. c.

Tabelle V.

Die Werte des Verhältnisses			Pilzdecke $\text{NH}_3\text{-N}$	- Ammonisationsproduktivität)			
bei <i>Aspergillus niger</i> .				bei <i>Citromyces glaber</i> .			
B. (5% Pept.)	1. (19°)	2. (30°)	3. (36°)	I. (2,5% Pept.)	a) (20°)	b) (25°)	c) (30°)
I. (6 Tage)	2,75	1,86	1,55	I. (15 Tage)	2,45	1,96	1,54
II. (15 Tage)	2,06	1,64	1,20	II. (30 Tage)	1,63	1,37	0,98

Aus der oben angeführten Charakteristik der Besonderheiten der *Citromyces*-Kulturen auf Pepton erklären sich die zahlreichen Ähnlichkeiten dieser Kulturen mit denen von *Asperg. niger*. Den Ausgangspunkt dieser Ähnlichkeit bildet die dem *Asperg. niger* und den *Citromyces* gemeinsame Fähigkeit, die Oxalsäure bei Entwicklung auf Pepton zu bilden und anzuhäufen.

Was überhaupt die Fähigkeit der *Citromyces*-Arten, die Oxalsäure zu bilden, anbetrifft, so gab es, als ich meine Versuche begann, soweit es mir bekannt ist, in der Literatur nur zwei diesbezügliche Angaben, die eine gehört *Mazé* und *Perrier*, die andere *Wehmer*.

Mazé und *Perrier*¹⁾ weisen auf Spuren von Oxalsäure in den Kulturen von *C. citricus* und *C. lacticus* auf Äthylalkohol und die unter dem Mikroskop nachweisbaren Ablagerungen von Calciumoxalat in den Pilzdecken solcher Kulturen hin. *Wehmer*²⁾ weist in einer seiner Abhandlungen in „Chem. Zeitung“ unter anderem flüchtig darauf hin, daß die Oxalsäure zuweilen in alten *Citromyces*-Kulturen auftritt, und erklärt ihre Bildung „durch weitere Verarbeitung des noch in Lösung befindlichen Citrats“.

Die bei meinen Versuchen erhaltenen Angaben über die Fähigkeit der *Citromyces*-Arten, die Oxalsäure auf anderen Kohlenstoffquellen außer Pepton zu bilden und anzuhäufen, werden in einer besonderen Abhandlung dargelegt werden.

Zusammenfassung.

Nach der Art der Ausnutzung des Peptons in den Bedingungen, wenn er die einzige Kohlenstoff- und Stickstoffquelle bildet, nähern sich die *Citromyces*arten dem *Asperg. niger*, indem sie eine ebenso hohe Ammonisationsfähigkeit, wie auch der letztere, aufweisen. Die Quantität des Stickstoffs, welcher in ihren Kulturen auf Pepton als Ammoniak frei wird, erreicht 75% des Gesamtstickstoffs des Peptons. Diese Besonderheit steht bei *Citromyces* wie auch bei *Asperg. niger* in Zusammenhang mit der Anhäufung der das Ammoniak bindenden Säure, wobei in den Kulturen auf Pepton sich nicht Citronensäure, wie man nach der Annahme von *Mazé* über die proteolytische Entstehung dieser Säure erwarten könnte, sondern Oxalsäure bildet.

¹⁾ P. Mazé und A. Perrier Ann. de l'inst. Pasteur 18, 553. 1904.

²⁾ C. Wehmer, Chem. Zeitung 33, 1281. 1909.

Was die Quantitätsverhältnisse zwischen dem sich in den Kulturen auf Pepton bildenden Ammoniak und der Oxalsäure, den Zusammenhang der Ammoniakbildung mit der Mycelentwicklung und die Abhängigkeit des Wertes des die „Ammonisationsproduktivität“ charakterisierenden Verhältnisses Pilzdecke: $\text{NH}_3\text{-N}$ von der Kulturdauer und Temperatur anbetrifft, so sind die für *Citromyces* erhaltenen Angaben denjenigen, welche für *Asperg. niger* festgestellt sind, völlig analog.

Das Verhältnis zwischen der Oxalsäure und dem Ammoniak erreicht niemals den Wert, welcher ihm in dem neutralen Ammoniumoxalat entspricht. Wie gewöhnlich bei *Asperg. niger* bleibt es auch hier hinter diesem Werte zurück, wobei die Abweichung in der Richtung des relativen Ammoniakübermaßes und Oxalsäuremangels bei *Citromyces* eine größere als bei *Asperg. niger* ist. Im Zusammenhang damit steht das raschere Erscheinen der alkalischen Reaktion in den *Citromyces*-Kulturen auf Pepton und die stärkere Entwicklung der Alkalität in denselben mit dem Steigen ihres Alters. Der relative Oxalsäuremangel, in Prozenten der Menge, welche zur Bildung des neutralen Salzes mit dem in den Kulturen vorhandenen Ammoniak notwendig ist, wird durch Werte, welche für *Citrom. glaber* zwischen 16–19 und für *Citrom. citricus* zwischen 12–14 schwanken, ausgedrückt.

Die Schwankungen dieser Werte entsprechen nicht immer der Reaktion der Kulturflüssigkeiten, und man muß annehmen, daß der Oxalsäuremangel in den Kulturen auf Pepton, wie bei *Asperg. niger*, so auch bei *Citromyces* teils durch das Vorhandensein von freiem (kohlen-saurem) Ammoniak, teils durch Anwesenheit anderer Säuren in denselben außer der Oxalsäure bedingt ist. In den Kulturen auf Pepton bildet sich bei *Citromyces* wie auch bei *Asperg. niger* die Hauptmenge des sich in ihnen anhäufenden Ammoniaks in der ersten Periode — der Periode der Mycelentwicklung. So betrug in den 15- und 30tägigen Kulturen von *Citrom. glaber* die Quantität des in den ersten 15 Tagen gebildeten Ammoniaks 90–95% der sich in der ganzen 30tägigen Periode anhäufenden Gesamtmenge desselben.

Das Verhältnis der Pilzdecke zum Ammoniakstickstoff (die Ammonisationsproduktivität) verändert sich in den *Citromyces*-Kulturen in Abhängigkeit von ihrem Alter und der Temperatur in derselben Richtung und ungefähr in denselben Grenzen wie auch bei *Asperg. niger*. Der Wert dieses Verhältnisses erreicht in der 15tägigen Kultur, bei 20°, fast 2,5 und sinkt, beim Ansteigen des Kulturalters bis auf 30 Tage und der Temperatur bis auf 30°, bis auf 1. Die Veränderungen des Verhältnisses zeigen im Zusammenhang mit den Veränderungen der Kulturbedingungen eine regelmäßige Abstufung.

Über die Bildung und Anhäufung der Oxalsäure in den *Citromyces*-Kulturen auf den Salzen der organischen Säuren.

Von

Wl. Butkewitsch.

(Aus dem pflanzenphysiologischen Laboratorium des land- und forstwissenschaftlichen Instituts Charkow, Rußland.)

(Eingegangen am 7. Februar 1922).

Nachdem es festgestellt wurde, daß die *Citromyces*-Arten die Fähigkeit besitzen, Oxalsäure bei der Entwicklung auf Pepton zu bilden und anzuhäufen, entstand natürlich die Frage über das Vorkommen dieser Fähigkeit auch auf anderen Kohlenstoffquellen. Als Kohlenstoffquelle auf Pepton dienen dem Pilze wahrscheinlich die Säuren, die bei der Desaminierung von Aminosäuren entstehen, und auf diesem Grunde könnte man voraussetzen, daß die Salze einiger organischen Säuren ein im gegebenen Falle geeignetes Material für die Oxalsäurebildung darstellen müssen. Für *Asperg. niger* hatte noch *Wehmer*¹⁾ gezeigt, daß seine Entwicklung auf den Salzen vieler organischer Säuren durch die reichliche Anhäufung von Oxalsäure begleitet wird²⁾. Als ich zu meinen Versuchen herantrat, hatte man für *Citromyces* in dieser Beziehung keine Angaben außer der schon früher von mir erwähnten³⁾ Voraussetzung von *Wehmer* über die Bildung der Oxalsäure auf Kosten des Citrats in älteren Kulturen⁴⁾.

Was überhaupt die *Citromyces*-Kulturen auf den organischen Säuren und ihren Salzen anbetrifft, so finden sich in der Literatur einige Angaben über die Versuche in dieser Richtung. So stellten *Mazé* und *Perrier*⁵⁾ für *Citromyces* eine Entwicklung auf Milch-, Wein-, Äpfel-,

¹⁾ C. Wehmer, Botan. Zeitung **49**, 233. 1891.

²⁾ Die Angaben von *Wehmer* wurden später mehrmals auch durch Versuche anderer Autoren bestätigt. Im Widerspruche mit ihnen steht nur der Hinweis von *Emmerling*, daß er die Oxalsäure in den Kulturen von *Asperg. niger* auf den Ammoniumsalzen der Äpfel-, Wein-, Bernstein- und Milchsäure nicht nachweisen konnte. O. Emmerling, Zentralbl. f. Bakt. (2) **19**, 273. 1903.

³⁾ Wl. Butkewitsch, diese Zeitschr. **129**, S. 455.

⁴⁾ C. Wehmer, Chem. Zeitung 1909, S. 1281.

⁵⁾ P. Mazé und A. Perrier, Ann. de l'Inst. Pasteur **18**, 553. 1904.

Bernstein- und Oxalsäure fest, es ist aber ihnen nicht gelungen, die Bildung der Citronensäure auf diesen Kohlenstoffquellen nachzuweisen. *Herzog* und *Polotzky*¹⁾ weisen auch auf das negative Resultat bezüglich der Bildung von Citronensäure in den *Citromyces*-Kulturen auf Ammoniumsalzen vieler organischer Säuren hin. Über die Bildung anderer Produkte außer der Citronensäure teilen diese Autoren keine Angaben mit. Nur für die Kultur mit maleinsaurem Ammonium gibt es einen Hinweis auf die Bildung bedeutender Mengen einer Säure, deren Natur unerklärt blieb.

Die Angaben von *Mazé* und *Perrier* über die Entwicklung von *Citromyces* auf den organischen Säuren scheinen sich auf die Kulturen mit freien Säuren zu beziehen, d. h. auf die Bedingungen, bei welchen das Anhäufen der Oxalsäure in den Kulturen, wenn auch dieselbe sich bildete, infolge ihres schnellen Verbrauchs im sauren Medium nicht stattfinden könnte. Bei solchen Bedingungen, wie das noch von *Wehmer*²⁾ festgestellt wurde, erscheint die Oxalsäure auch nicht in Kulturen von *Asperg. niger*. Desto weniger kann man ihr Anhäufen bei dem *Citromyces* erwarten, bei welchem die Fähigkeit zum Verbrauch der Oxalsäure (nicht nur der freien, sondern auch der durch Basen gebundenen) stärker als bei *Asperg. niger* ausgedrückt ist. Das kann man schon aus der schnelleren Erscheinung und stärkeren Entwicklung der alkalischen Reaktion in den *Citromyces*-Kulturen auf Pepton (im Vergleich mit den Kulturen von *Asperg. niger*) sehen³⁾).

Herzog und *Polotzky* beschränken sich in betreff ihrer Versuche mit den Ammoniumsalzen der organischen Säuren nur auf eine ganz kurze Bemerkung über das negative Resultat für die Citronensäure. Sie geben keine Hinweise weder in bezug auf die organischen Säuren, deren Salze für die Kulturen gebraucht wurden, noch in bezug auf die Bedingungen, bei denen sie aufgestellt wurden. Wenn das Anhäufen der Oxalsäure in diesen Versuchen tatsächlich nicht stattfand³⁾, so konnte das durch irgendwelche Besonderheiten in der Anstellung der Versuche bedingt werden, z. B. durch unzureichende Kulturdauer bei schwacher Mycelentwicklung, was eine gewöhnliche Erscheinung in den Kulturen mit den Salzen der organischen Säuren (besonders Ammoniumsalzen) als einziger Kohlenstoffquelle bildet. In solchen Kulturen führt der Verbrauch der Säure durch den Pilz zum Freiwerden der Base und zum Erscheinen der alkalischen Reaktion, welche die Mycelentwicklung und weitere Ausnutzung der Säure hemmt.

¹⁾ *R. O. Herzog* und *A. Polotzky*, Zeitschr. f. physiol. Chem. **59**, 125. 1909.

²⁾ *Wl. Butkewitsch*, diese Zeitschr. **129**, S. 445.

³⁾ Ob die Autoren Versuche gemacht hatten, die Oxalsäure nachzuweisen, wissen wir nicht, man muß aber denken, daß sie ihnen bei ihrem Vorhandensein in den Kulturen nicht entgehen könnte.

Um die Entwicklung des Pilzes zu verstärken, wurde in den weiter unten beschriebenen Versuchen mit den Salzen der organischen Säuren außer denselben noch eine ergänzende Kohlenstoffquelle entweder als ein gewisses Übermaß der freien Säure, die dem für die Kultur genommenen Salze entsprach, oder als eine gewisse Menge von Zucker den Kulturen zugesetzt.

Für die Kulturen wurden teils Ammoniak-, teils Natriumsalze der zu untersuchenden Säuren genommen. In diesen Versuchen figurierten dieselben zwei *Citromyces*-Arten wie in den vorigen, d.h. *Citrom. glaber* und *Citrom. citricus*. Zu den Kulturen dieser *Citromyces*-Arten wurden zum Vergleich gewöhnlich die von *Asperg. niger* und manchmal auch noch die von einigen anderen Pilzen hinzugefügt.

Die Angaben über die Zusammensetzung der Nährlösungen, die Temperatur und die anderen Bedingungen, bei denen die Kulturen aufgestellt wurden, sind bei der Beschreibung der einzelnen Versuche mitgeteilt.

Bei der Untersuchung der Kulturen wurden sie auf die Anwesenheit der Oxalsäure geprüft. Im Falle des Nachweises derselben wurde ihr Gehalt in der Kultur nach dem üblichen Verfahren durch Fällung mit Chlorkalcium bestimmt.

Nur in den Kulturen mit den Salzen der Citronensäure begegnete die Oxalsäurebestimmung einigen Schwierigkeiten in den Fällen, wenn diese Säure zur Zeit der Analyse noch in bedeutender Menge in der Kulturflüssigkeit sich befand. Die Schwierigkeiten entstanden dadurch, daß eine gewisse Menge von Calciumcitrat, bei dem üblichen Verfahren der Oxalsäurefällung durch den Zusatz von Chlorkalcium in einigem Überschusse zu der mit Essigsäure schwach angesäuerten Flüssigkeit, sogar bei kurze Zeit dauerndem Erhitzen und Stehen der letzten, zum Niederschlage des Calciumoxalats beigemischt wird. Um das zu vermeiden, wurde die Niederschlagung der Oxalsäure in solchen Fällen bei stärkerer Ansäuerung der Flüssigkeit als gewöhnlich (ca. 1% Essigsäure) und bei möglichst geringem Überschusse des Chlorkalciums ausgeführt. Außerdem wurde die Flüssigkeit mit dem Niederschlage nicht lange Zeit stehengelassen, und er wurde sogleich nach dem Kochen und Absetzen abfiltriert.

Trotz der obengenannten Vorsichtsmaßregeln wurden manchmal doch Niederschläge erhalten, in welchen die Titrierung mit Permanganat, die zu hohe Werte gab, eine Beimischung von Calciumcitrat erwies. Für solche Niederschläge wurde eine Korrektur auf Beimischung von Calciumcitrat eingeführt. Als Grund für die Korrektur dienten 1. die Ergebnisse der Titrierung des Niederschlags mit Permanganatlösung und 2. der Titer derselben in bezug auf die Oxal- und Citronensäure.

Bei den späteren Versuchen, welche eine quantitative Bestimmung sowohl der Oxal- als auch der Citronensäure in Angriff nahmen, wurde von mir ein sichereres und genaueres Verfahren zur Trennung dieser Säuren ausgearbeitet. Dieses Verfahren wird in einer anderen Abhandlung nebst den Versuchen, bei denen es angewandt wurde, beschrieben werden.

Bei der Herstellung der Nährlösungen für die Kulturen wurden nicht die fertigen Salze der zum Versuch dienenden Säuren, sondern die Säuren selbst genommen, und Ammoniak oder Natriumcarbonat wurde ihren Lösungen in entsprechenden Quantitäten mit solcher Berechnung hinzugetan, daß eine gewisse Menge der Säure freibleib. Alle auf diese Versuche sich beziehenden Kulturen wurden bei einer Temperatur von ca. 25° aufgestellt.

Versuch I: Mit Ammoniumcitrat.

Zusammensetzung der Nährlösung.

1.	Citronensäure	3,0%	Auf jeder Nährlösung je drei Kulturen <i>Asperg. niger</i> a. <i>Citrom. glaber</i> g. <i>Citrom. citricus</i> c.
	CNH ₃	0,0%	
	(freie Säure ca. 1%)		
2.	Salze (ohne Zn)	0,2%	Für jede Kultur je 30 ccm Flüssigkeit.
	Dasselbe wie 1. + ZnSO ₄ . .	0,02%	

Die Entwicklung war in allen Kulturen schwach. Die Pilzdecken waren sehr dünn und unvollständig. In den Kulturen von *Citrom. citricus* sanken sie auf den Boden, und deshalb wurden diese Kulturen nicht untersucht. Wenn die Kulturen zur Analyse genommen wurden, reagierte ihre Flüssigkeit auf Lackmus alkalisch und auf Phenolphthalein sauer.

Tabelle I.

Kulturen	Dauer der Kulturen Tage	Acidität mit Phenol- phthalein auf 10 ccm Kulturflüssigkeit "10-NaOH ccm	Pilzdecke μ	Oxalsäure C ₂ O ₄ H ₂ in Kulturflüssigkeit nach Niederschlagsgewicht*) (C ₂ O ₄ Ca · H ₂ O) mg
1 { a.	20	4,3	0,1325	225,46
g.		3,3	0,0565	ein wenig
2 { a.	165	2,5	0,0550	64,80
g.		3,2	0,0370	75,64

*) C₂O₄Ca · H₂O enthält 61,64% C₂O₄H₂.

Versuch II, mit Ammonium- und Natriumcitrat.

Zusammensetzung der Nährlösung.

1.	Citronensäure	6,5%	Auf jeder Nährlösung je zwei Kulturen <i>Citrom. glaber</i> g. <i>Citrom. citricus</i> c.
	NH ₃	1,5%	
	(freie Säure ca. 0,5%)		
2.	Salze	0,2%	Für jede Kultur je 50 ccm Flüssigkeit
	Dasselbe wie 1., nur anstatt NH ₃		
	Na ₂ CO ₃	5,0%	
	NH ₄ NO ₃	0,5%	
		Kulturdauer	20 Tg.

Die Mycelentwicklung war schwach, etwas besser auf der Nährlösung 2. Die Kulturflüssigkeiten reagierten auf Lackmus alkalisch.

Tabelle II.

Kulturen	Pilzdecke g	Oxalsäure $C_2O_4H_2$	
		In Kulturflüssigkeit nach Niederschlagsgewicht ($C_2O_4Ca \cdot H_2O$) mg	Prozentgehalt im Nieder- schlage nach Titrieren mit Permangan *)
Citr. glaber . . .	1	39,30	—
	2	190,53	61,86

*) $C_2O_4Ca \cdot H_2O$ enthält 61,64% $C_2O_4H_2$.

Die Oxalsäure wurde auch in den Kulturen von *Citrom. citricus* nachgewiesen, quantitativ aber nicht bestimmt.

Versuch III. mit Natriumcitrat.

Zusammensetzung der Nährlösung.

1.	Citronensäure	9,0%	Auf jeder Nährlösung je zwei Kulturen
	Na_2CO_3	7,5%	
	(freie Säure ca. 1%)		<i>Asperg. niger</i> g.
	NH_3	0,06%	<i>Citrom. glaber</i> a.
2.	Salze	0,15%	Für jede Kultur je 50 ccm Flüssig- keit.
	Dasselbe wie 1., + Glucose . . .	1%	
			Kulturdauer 27 Tage

Beide Kulturen ohne Glucose hatten unvollständige Pilzdecken mit schwach entwickelten Conidien, die mit Glucose dichte reichlich mit Conidien bedeckte. Die Reaktion der Flüssigkeit auf Lackmus war nur in der Kultur von *Asperg. niger* mit Glucose sauer, in den übrigen alkalisch.

Tabelle III.

Kul- turen	Acidität mit Phenolphth. auf 10 ccm Kultur- flüssigkeit n/10-NaOH ccm	Pilz- decke g	Oxalsäure $C_2O_4H_2$		Unverbrauchte Citronensäure
			In Kulturflüssigkeit nach Niederschlag- gewicht ($C_2O_4 \cdot H_2O$) mg	Prozentgehalt im Niederschlage nach Titrieren mit Permangan *)	
a.	1	0,2665	1865,93	61,34	nicht nachgewiesen ein wenig
	2	0,4285	1466,39	61,04	
g.	1	0,0845	441,49	61,41	} viel (ca. 2 g)
	2	0,1710	575,10	61,63	

*) $C_2O_4Ca \cdot H_2O$ enthält 61,64% $C_2O_4H_2$.

Bei der Untersuchung der Kulturen in Beziehung auf die Citronensäure wurde dieselbe als schwer lösliches Calciumsalz nach dem üblichen Verfahren ausgeschieden. Dem Filtrat vom Calciumoxalat wurde Calciumcarbonat zugesetzt, und es wurde dem Kochen unterworfen. Nach dem Absetzen wurde der Niederschlag abfiltriert und in Salzsäure aufgelöst. Die erhitzte Lösung wurde durch Ammoniak neutralisiert und gekocht. Die Ausscheidung des charakteristischen Niederschlags des Calciumcitrats ließ das Vorkommen der Citronensäure fest-

*) Die mit $CaCl_2$ erhaltenen Niederschläge enthielten, wie das Titrieren mit Chamäleon zeigte, einige Beimischung von Calciumcitrat. Auf Grund der Titrierungsergebnisse wurde eine entsprechende Korrektur eingeführt.

stellen, und nach seiner Quantität konnte man auf die der unverbraucht gebliebenen Säure schließen¹⁾.

Dieses Verfahren der Bestimmung der Citronensäure ist wegen der bedeutenden Löslichkeit ihres Calciumsalzes nicht besonders genau, und in dem Falle, wo kein Niederschlag nachgewiesen wurde, kann man noch nicht auf ihre völlige Abwesenheit schließen.

Versuch IV, mit weinsaurem Ammonium.

Zusammensetzung der Nährlösung.

1.	Weinsäure	6,0%	Auf jeder Nährlösung je drei Kulturen <i>Asperg. niger</i> a. <i>Citrom. glaber</i> g. <i>Citrom. citricus</i> c.
	NH ₃	1,2%	
	(freie Säure ca. 1%)		
2.	Salze (zu SO ₄ 0,02%) . . .	0,2%	Für jede Kultur je 30 ccm Flüssigkeit. Dauer der Kulturen der I. Serie 21 Tage, der II. 170 Tage.
3.	Dasselbe wie 1., + Glucose . .	0,5%	
3.	Dasselbe wie 1., aber ohne ZnSO ₄		

In den Kulturen ohne Glucose hemmte das Zink sichtlich die Conidientwicklung. Mit Glucose wurden die Decken bedeutend stärker entwickelt. Zur Zeit der Analyse bedeckte sich das Mycel in allen Kulturen mit Conidien. Nur einige Kulturen, die in der Tabelle angeführt sind, wurden der Analyse unterworfen. In allen analysierten Kulturen reagierte die Flüssigkeit auf Lackmus schwach alkalisch und auf Phenolphthalein sauer.

Tabelle IV.

Kulturen	Acidität mit Phenolphth. auf 10 ccm Kultur- flüssigkeit n/10 • NaOH ccm	Pilzdecke g	Oxalsäure C ₂ O ₄ H ₂	
			in Kulturflüssigkeit nach Niederschlagge- wicht (C ₂ O ₄ Ca • H ₂ O) mg	Prozentgehalt im Niederschlage nach Titrieren mit Permangan
I (21 Tage)	a. { 1	—	765,69	60,86
	2	0,0660	870,41	61,30
	g. { 1	0,0310	—	—
	2	0,0700	—	—
II (170 Tage)	a. 3	0,0550	802,63	61,31
	c. 2	0,0295	—	—

Also wurde die Oxalsäure in den *Citromyces*-Kulturen mit weinsaurem Ammonium nicht nachgewiesen. In den Kulturflüssigkeiten, zu denen Chlorcalcium zugegeben wurde, schieden sich beim Stehen nach einiger Zeit die charakteristischen Krystalle vom weinsauren Calcium aus. Bei *Asp. niger* wurden solche Ausscheidungen nicht beobachtet. In seinen Kulturen wurde die Weinsäure ganz oder fast ganz verbraucht. Die Quantitäten der in denselben gefundenen Oxalsäure nähern sich

¹⁾ In der Kulturflüssigkeit von *Asp. niger* ohne Glucose wurde gar keine Ausscheidung des Calciumcitrats und in der mit Glucose nur ein unbedeutender Niederschlag nachgewiesen. Beide Kulturen von *Citrom. glaber* gaben einen reichlichen Niederschlag. Für die Kultur mit Glucose wurde der Niederschlag abfiltriert und gewogen. Auf Grund dieses Wägens ist die Menge der unverbrauchten Citronensäure in der Tabelle angegeben.

derjenigen, welche für die Bildung des neutralen Salzes mit dem den Kulturen zugesetzten Ammoniak nötig ist (ca. 966 mg)¹⁾.

Versuch V, mit bernsteinsäurem Ammonium.

Zusammensetzung der Nährlösung.

Bernsteinsäure	4,0%	Zwei Kulturen:
NH ₃	0,6%	<i>Citrom. glaber</i> g.
(freie Säure ca. 2%)		<i>Citrom. citricus</i> c.
Salze	0,2%	Für jede Kultur je 30 ccm Flüssigkeit.
		Kulturdauer 14 Tage

In beiden Kulturen wurden die Decken gut entwickelt, aber gegen Ende des Versuches sanken sie in die Flüssigkeit, weshalb derselbe auch abgeschlossen wurde.

Tabelle V.

Kulturen	Pilzdecke g	Oxal-säure C ₂ O ₄ H ₂	
		in Kulturflüssigkeit nach Niederschlag- gewicht (C ₂ O ₄ (Ca ₂ H ₂ O) mg	Prozentgehalt im Niederschlage nach Titrieren mit Permangan
g.	0,1355	52,73	61,40
c.	0,1480	96,10	60,98

Versuch VI, mit chinasäurem Natrium.

Zusammensetzung der Nährlösung.

Zusammensetzung der Nährlösung.		Auf jede Nährlösung je vier Kulturen:	
1.	Chinasäure	5,5%	<i>Asperg. niger</i> a.
	Na ₂ CO ₃	1,4%	<i>Citrom. glaber</i> g.
	(freie Säure ca. 0,5%)		<i>Citrom. citricus</i> c.
	NH ₄ NO ₃	0,5%	Für jede Kultur je 30 ccm Flüssig-
	Salze (ohne Zn)	0,2%	keit.
2.	Dasselbe wie 1. + ZnSO ₄	0,02%	Kulturdauer für <i>Penic. glaucum</i> 15 Tg.
3.	Dasselbe wie 2. + Glucose	0,5%	für die übrigen Pilze 10 Tage.

In allen Kulturen war eine gute Entwicklung. So viel man bemerken konnte, verlief sie etwa schneller in denselben mit Zink und mit Zink und Glucose.

Nach 3–4 Tagen erschien in der Flüssigkeit der *Citromyces*- und *Penicillium*-Kulturen eine kirschrote Färbung, deren Intensivität darauf allmählich zunahm. Bei den *Citromyces* begann die Färbung nach einigen Tagen, nachdem sie eine bedeutende Intensivität erreicht hatte, sich abzuschwächen und verschwand endlich vollständig, und die Flüssigkeit wurde hellgelb. — Bei *Penicillium* erhielt sich die Färbung bis zum Ende des Versuches, sie verschwand aber bei der Ansäuerung der Kulturflüssigkeit, welche eine alkalische Reaktion hatte. Also ist die Färbung der Flüssigkeit an die alkalische Reaktion gebunden.

In allen Kulturen außer denen von *Penic. glaucum*, bei welchem die Flüssigkeit, wie schon erwähnt ist, stark alkalisch regierte, hatten ihre Flüssigkeiten eine neutrale Reaktion (auf Lackmus) und in der Kultur von *Asp. niger* war sie sogar schwach sauer.

Da die kirschrote Färbung mit der Alkalität der Flüssigkeit im Zusammenhange steht, lassen die oben genannten Veränderungen der Färbung in den *Citro-*

¹⁾ In den Kulturen von *Asp. niger* wurde die Ausscheidung der nadelförmigen Krystalle beobachtet, die sich leicht beim Überschusse von Wasser auflösten. Wahrscheinlich waren das die Krystalle von Ammoniumoxalat.

myces-Kulturen auch die entsprechenden Veränderungen in der Reaktion ihrer Flüssigkeit annehmen. Im Anfange der Entwicklung wird die Kulturflüssigkeit, wie es den Anschein hat, alkalisch, und darauf wird die Alkalität nach und nach durch die in der Kultur sich anhäufende Säure aufgehoben. — Die Flüssigkeit in den Kulturen von *Asp. niger* bekam eine dunkelbraune Färbung, die sie auch bis zum Schlusse des Versuches behielt.

Bei den in der Kulturflüssigkeit von *Penic. glaucum* nachgewiesenen Besonderheiten ist neben der starken Alkalität noch die reichliche Ausscheidung von Kohlendioxyd bei Ansäuerung mit Essigsäure anzuführen — eine Erscheinung, welche auf das Vorkommen einer bedeutenden Menge von Carbonaten in diesen Kulturen hinweist.

Tabelle VI.

Kulturen *)	Pilzdecke κ	Oxalsäure $C_2O_4H_2$	
		in Kulturflüssigkeit nach Niederschlaggewicht ($C_2O_4Ca \cdot H_2O$) mg	Prozentgehalt im Nieder- schlag nach Titrieren mit Permangan ***)
a.	1	251,94	62,02
	2	272,89	62,17
	3	276,58	61,75
g.	1	206,61	62,13
	2 — **)	293,83	61,54
	3 — **)	314,41	61,24
p.	1	57,04	61,64
	2	67,76	61,77
	3	128,74	61,56

*) Die Kulturen von *Citrom. citricus* wurden nicht analysiert.

**) Das Gewicht der Pilzdecken in diesen Kulturen wurde nicht bestimmt.

***) Calciumoxalat ($C_2O_4Ca_2 \cdot H_2O$) enthält 61,64 % Oxalsäure ($C_2O_4H_2$).

In der Kulturflüssigkeit von *Penic. glaucum* wurde die Alkalität durch Titrierung mit Phenolphthalein und Methylorange als Indicator bestimmt. Mit dem letzteren wurde die Flüssigkeit direkt durch $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure titriert. Bei der Anwendung des Phenolphthaleins wurde $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure der für die Alkalitätsbestimmungsgenommenen Flüssigkeit im Übermaße zugesetzt, und nach dem Kochen (um OC_2 zu entfernen) wurde der Säureüberschuß durch Titrierung mit $\frac{n}{10}$ -Natronlauge bestimmt. Die auf diese Weise gefundene Menge der durch die Basen der Kulturflüssigkeit gebundenen Schwefelsäure (in ca. $\frac{n}{10}$ -Lösung) drückte die Alkalität aus. Die die Alkalität charakterisierenden Zahlen (wie auch die oben für die Acidität angegebenen) sind auf 10 ccm ursprünglicher Kulturflüssigkeit bezogen.

Die Kulturen von <i>Pen. glaucum</i>		1	2	3
Alkalität auf 10 ccm Kulturflüssigk.	mit Phenolphth.	14,0	14,3	10,7
in ccm. $\frac{n}{10}$ - H_2SO_4	mit Methylor.	17,3	18,3	15,0

Das den Kulturen zugesetzte Natriumcarbonat könnte durch seine Base ungefähr 350 mg Oxalsäure binden. Stellen wir diesen Wert mit den Mengen der in den Kulturen gefungenen Oxalsäure zusammen, so sehen wir, daß 60—90% der Säure des für die Kultur genommenen chinasäuren Natriums bei *Asp. niger* und *Citromyces glaber* durch Oxalsäure ersetzt sind. Die Kulturen von *Penic. glaucum*

enthalten schon neben dem Natriumoxalat bedeutende Mengen des Carbonats. Nur der verhältnismäßig geringere Teil der Base (15--35%) ist hier durch Oxalsäure gebunden, der größte Teil bildet aber das Carbonat. Bei *Penic. glaucum* äußert sich der Oxydationsvorgang energischer als bei den anderen in diesem Versuch geprüften Pilzen, und die Oxalsäure ist als Zwischenstufe hier verhältnismäßig schwach repräsentiert¹⁾.

In den 2 folgenden Versuchen mit Citronen- und weinsauerm Natrium zu den 4 Pilzen, die im Versuche mit Chinasäure figurierten, wurden noch 3, *Aspergillus oryzae*, *Mucor stolonifer* (*Rizopus nigricans*) und *Mucor racemosus* hinzugefügt. Da beide Versuche parallel bei gleichen Bedingungen aufgestellt wurden, so geben wir für sie auch eine gleichzeitige Beschreibung.

Versuche VII und VIII, mit citronen- und weinsauerm Natrium.

Zusammensetzung der Nährlösung.

Auf jeder Nährlösung je 7 Kulturen:

VII.	{	Citronensäure	4,4%	<i>Asperg. niger</i>	<i>A. n.</i>
		Na ₂ CO ₃	2,9%	<i>Asperg. oryzae</i>	<i>A. o.</i>
		(freie Säure ca. 0,6%)		<i>Penic. glaucum</i>	<i>P. g.</i>
		Glukose	2,0%	<i>Mucor stolonifer</i>	<i>M. s.</i>
		NH ₄ NO ₃	0,25%	<i>Mucor racemosus</i>	<i>M. r.</i>
		Salze (ZnSO ₄ 0,01%)	0,15%	<i>Citrom. glaber</i>	<i>C. g.</i>
VIII.	{			<i>Citrom. citricus</i>	<i>C. c.</i>
		Dasselbe wie VII nur anstatt		Für jede Kultur je 25 cem Flüssigkeit.	
		Citronensäure, Weinsäure	4,3%	Kulturdauer 120 Tage, für parallele	
		(freie Säure ca. 0,3%)		Kulturen von <i>C. glaber</i> und <i>C. citricus</i>	
				(<i>C. g.</i> und <i>C. c.</i>) 150 Tage.	

Bei den verschiedenen Pilzen verlief die Entwicklung nicht gleichartig, in allen Kulturen hatten aber die Decken ein gutes, normales Aussehen.

In der auf S. 473 folgenden Tabelle sind die Ergebnisse der Analyse der Kulturen angeführt. Was die Anmerkungen über den Gehalt von Citronen- und Weinsäure, die in den Kulturen unverbraucht blieb, anbelangt, so geben wir sie auf Grund der Beobachtungen über die Bildung von Niederschlägen der Calciumsalze dieser Säuren weder in den Filtraten von Calciumoxalat oder in den Flüssigkeiten selbst (wo es keine Oxalsäure gab), wenn die letzteren nach dem Zusatz von Chlorecalcium und nach dem Kochen (bei neutraler oder schwach saurer Reaktion) stehengelassen wurden.

Bei den Bestimmungen der Acidität oder Alkalität in den von den Pilzdecken abfiltrierten Kulturflüssigkeiten wurden sie dem Titrieren mit Phenolphthalein als Indicator unterworfen. Da, wo die Flüssigkeit auf Phenolphthalein sauer reagierte, wurde sie nach dem Kochen direkt mit $\frac{n}{10}$ -Natronlauge titriert. In den Fällen

¹⁾ Es ist zu bemerken, daß die Anhäufung der Oxalsäure bei *Penic. glaucum*, das in unseren Versuchen gebraucht wurde, nur in den Kulturen auf chinasauerm Natrium festgestellt wurde. Bei seiner Entwicklung auf anderen Stoffen, unter anderem auch auf Pepton, wurde das Vorkommen der Oxalsäure niemals nachgewiesen.

Tabelle VII—VIII.

Kulturen	Reaktion der Kulturflüssigkeit auf Lackmus	Pilzdecke g	Oxalsäure $C_2O_4H_2$		Unverbrauchte Citronen- resp. Weinsäure	
			in Kulturflüssigkeit nach Niederschlagsgewicht ($C_2O_4Ca \cdot H_2O$) g	Prozentgehalt im Niederschlage nach Titrieren mit Permangan *)		
VII. (citronens. Na)	A. n.	schwach alkal.	0,1125	566,72	61,44	nicht nachgew.
	A. o.	stark alkal.	0,0820	—	—	viel
	P. g.	" "	0,1320	—	—	"
	M. s.	schwach sauer	0,1655	—	—	"
	M. r.	" alkal.	0,0730	—	—	"
	C. c.	" "	0,0520	156,46	61,15	"
	C. g.	" "	0,0855	397,94	61,50	ein wenig
	C'. c.	" "	0,0625	162,01	61,80	viel
	C'. g.	" "	0,0805	400,40	61,70	ein wenig
VIII. (weinsäur. Na)	A. n.	" "	0,1485	574,73	61,20	nicht nachgew.
	A. o.	stark "	0,1080	—	—	"
	P. g.	" "	0,1420	—	—	ein wenig
	M. s.	" "	0,1450	—	—	viel
	M. r.	" sauer	0,0720	—	—	"
	C. c.	alkal.	0,0525	—	—	"
	C. g.	" "	0,1065	Spuren	—	"
	C'. c.	" "	0,0740	"	—	"
	C'. g.	" "	0,1155	"	—	"

*) $C_2O_4Ca \cdot H_2O$ enthält 61,64% $C_2O_4H_2$.

der alkalischen Reaktion wurde die Titrierung der Flüssigkeit genau so, wie im Versuch VI bei Bestimmung der Alkalität in den Kulturen von *Penic. glaucum*, ausgeführt. Der Flüssigkeit wurde $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure im Übermaß hinzugesetzt, und darauf wurde sie mit $\frac{n}{10}$ -Natronlauge titriert. Die Alkalität wurde in cem $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure, die durch die Basen der Flüssigkeit gebunden war, ausgedrückt. Die Ergebnisse der Titrierung sind für die Kulturen beider Versuche in der weiter unten folgenden Tabelle zusammengestellt.

Tabelle IX—X.

Auf 10 cem Kulturflüssigkeit		A. n.	A. s.	P. g.	M. s.	M. r.	C. c.	C. g.	C'. c.	C'. g.	Kontrolle*)
IX.	Acidität in cem										
	$\frac{n}{10}$ -NaOH . .	0,8		—	2,8	0,5	0,5	0,8	0,8	0,6	12,5
	Alkalität in cem										
X.	$\frac{n}{10}$ -H ₂ SO ₄ . .		2,9	3,7	—	—	—	—	—	—	—
	Acidität in cem										
	$\frac{n}{10}$ -NaOH . .	0,8	—	—	—	6,4	0,4	0,4	0,4	0,4	6,0
	Alkalität in cem										
	$\frac{n}{10}$ -H ₂ SO ₄ . .		51,2	44,4	32,0	—	—	—	—	—	—

*) Die ursprüngliche Nährlösung ohne Kultur.

Aus den oben angeführten Ergebnissen der Versuche VII und VIII erweist sich ein sehr ungleiches Verhältnis der verschiedenen Pilze zur Citronen- und Weinsäure. In den Kulturen von *Asperg. niger* sind

sowohl die eine als auch die andere dieser Säuren völlig oder fast völlig verbraucht, und die Menge der sie ersetzenden Oxalsäure kommt ziemlich nahe der, welche bei der Bildung des neutralen Salzes durch die als Natriumcarbonat der Nährlösung zugesetzte Base gebunden werden kann¹⁾. Was die übrigen Pilze anbelangt, so ist das Vorkommen der Oxalsäure nur in den Kulturen von *Citrom. glaber* und *Citrom. citricus* festgestellt, wobei sie hier in mehr oder weniger bedeutender Menge in den Kulturen auf Natriumcitrat gefunden ist. Auf weinsaurem Natrium ist die Oxalsäure, ungeachtet der langen Kulturdauer, nur in Spuren oder auch gar nicht nachgewiesen. Dies Ergebnis entspricht dem, welches im Versuch IV mit weinsaurem Ammonium erhalten ist, wo die Oxalsäure ebenfalls nicht gefunden werden konnte.

Unter den Kulturen, in denen die Oxalsäure nicht nachgewiesen ist, zeichnen sich die Kulturen von *Asperg. oryzae*, *Penic. glaucum* und *Mucor stolonifer* auf weinsaurem Natrium durch reichliche Anhäufung des Carbonats in ihnen aus²⁾. Bei *Asperg. oryzae* sind mehr als 90%, bei *Penic. glaucum* 80% und bei *Mucor stolonifer* ca. 60% des der Nährlösung zugesetzten weinsauren Natriums in Carbonat umgewandelt³⁾. Dieselbe Fähigkeit zur Carbonatanhäufung kam, wenn auch in viel geringerem Grade, bei *Asperg. oryzae* und *Penic. glaucum* ebenfalls in den Kulturen mit Natriumcitrat zum Vorschein. Im Gegenteil ist bei *Mucor stolonifer* in der Kultur mit dem letzteren eine bedeutende Acidität der Flüssigkeit nachgewiesen, was auf unvollständigen Gebrauch sogar der in ihr befindlichen freien Säure hinweist. Dieselbe Erscheinung, d. h. die Bewahrung einer hohen Acidität, findet auch in der Kultur von *Mucor racemosus* mit weinsaurem Natrium statt. Hier bleibt die Acidität am Schlusse des Versuches dieselbe wie auch in der ursprünglichen Nährlösung. Auf Grund dessen kann man annehmen, daß die Weinsäure in der Kultur von *Mucor racemosus* gar nicht verbraucht wurde.

Was die übrigen Kulturen außer den soeben genannten, d. h. die Kulturen von *Asperg. niger* und *Citromyces* mit wein- und citronensaurem und von *Mucor racemosus* mit citronensaurem Natrium anbelangt, so ist die Reaktion der Flüssigkeit in allen ihnen auf Phenolphthalein

¹⁾ Dafür wäre ca. 600 mg Oxalsäure nötig.

²⁾ In den Flüssigkeiten dieser Kulturen erzeugte die ihnen zugesetzte Essig- oder Salzsäure eine reichliche Ausscheidung von Kohlendioxyd.

³⁾ Beim Titrieren der Natriumcarbonatlösung, die den Kulturen zugesetzt wurde, (nach dem bei den Kulturflüssigkeiten mit alkalischer Reaktion angewandten Verfahren), brauchte man 55,2 ccm $\frac{n}{10}$ -Schwefelsäure, um diejenige Menge dieser Lösung zu sättigen, welche auf 10 ccm Nährlösung genommen wurde. Dieser Wert und diejenigen, die beim Titrieren der Kulturflüssigkeit erhalten wurden, dienten als Grundlage für die Berechnung der relativen Quantitäten des in Carbonat umgewandelten weinsauren Natriums.

schwach sauer, und die Acidität schwankt in den engen Grenzen von 0,8—0,4. Das wurde dadurch bedingt, daß die der Kultur als Natriumsalz zugesetzte organische Säure entweder fast gar nicht verbraucht oder bei ihrem Verbrauch durch eine beinahe äquivalente Menge von Oxalsäure ersetzt wurde.

Die hier erhaltenen Ergebnisse, welche ein sehr ungleiches Verhältnis der Pilze zu verschiedenen organischen Säuren und ihren Salzen nachweisen, stellen nur das Resultat einiger vorläufiger Versuche dar und erzeugen eine Reihe von Fragen, die eine eingehendere Untersuchung verdienen.

Zusammenfassung.

Bei der Ausnutzung der Salze von organischen Säuren als Kohlenstoffquelle durch die *Citromyces*-Arten (*Citrom. glaber* und *Citrom. citricus*) bildet sich die Oxalsäure, wobei sie die verbrauchte Säure in den für die Kultur genommenen Salzen ersetzt, ebenso wie auch bei *Asperg. niger*.

Die Reaktion der Flüssigkeit wird in den Kulturen von *Citromyces* mit den Salzen organischer Säuren auf Lackmus schwach alkalisch und bleibt auf Phenolphthalein sauer.

Die Entwicklung des Pilzes und die Anhäufung der Oxalsäure geht besser auf Natrium- als Ammoniumsalzen vor sich, und die Acidität der Nährlösung (auf Phenolphthalein) bleibt in den Kulturen mit den letzteren (3—2,5) höher als in denjenigen mit den ersteren (0,8—0,2).

In noch höherem Grade hängt die Oxalsäureanhäufung von der Natur der organischen Säure ab, deren Salz für die Kultur verwendet ist. Dabei ist das Verhältnis von *Citromyces* und *Asperg. niger* zu derselben Säure nicht immer gleich. Überhaupt ist die Fähigkeit zur Anhäufung der Oxalsäure bei *Asperg. niger* stärker als bei *Citromyces* ausgedrückt. Eine besonders starke Divergenz kam in ihrem Verhältnis zu den Salzen der Weinsäure zum Vorschein. *Asperg. niger* verbraucht diese Säure verhältnismäßig schnell und vollständig, wobei sie durch Oxalsäure ersetzt wird. In den Kulturen von *Citromyces* auf weinsäuren Salzen ist aber die Oxalsäure gar nicht oder nur in Spuren nachgewiesen.

Auf den Salzen der anderen versuchten Säuren (Citronen-, Bernstein-, Chinasäure) zeigten *Citromyces* die Fähigkeit, die Oxalsäure in mehr oder weniger bedeutenden Mengen anzuhäufen. Im höchsten Grade zeigte sich die Fähigkeit auf den Salzen der Chinasäure, welche in verhältnismäßig kurzer Zeit (110 Tage) vollständig oder fast vollständig durch Oxalsäure ersetzt wurde.

Überhaupt zeigte sich das Natriumsalz der Chinasäure als eine besonders für Oxalsäureanhäufung geeignete Kohlenstoffquelle. Auf diesem Salze ist die Anhäufung der Oxalsäure in bedeutender Menge

(neben Carbonat) auch in den Kulturen von *Penic. glaucum* nachgewiesen. Auf den Salzen der anderen organischen Säuren (Wein-, Citronensäure) ist nur Carbonat in seinen Kulturen gefunden¹⁾.

Dieselbe Erscheinung ist auch für *Asperg. oryzae* und teils für *Mucor stolonifer* festgestellt, in deren Kulturen mit Natriumsalzen einiger organischer Säuren auch Carbonat sich anhäufte und eine stark alkalische Reaktion sich entwickelte.

Für die eine hohe Alkalität des Mediums nicht vertragenden Pilze, zu denen die *Citromyces*-Arten (sowie auch *Asperg. niger*) gehören, erscheint die Fähigkeit, die Oxalsäure bei der Entwicklung auf den Salzen organischer Säuren anzuhäufen, als eine für sie vorteilhafte Besonderheit, welche das Steigen der Alkalität beim Verbrauch der organischen Säuren beschränkt.

¹⁾ Vielleicht ist das durch die bedeutende Dauer dieser Kulturen bedingt.

Studien über qualitative Unterernährung.

II. Mitteilung.

Der experimentelle Nachweis des Antineuritins.

Von

Franz Hofmeister.

(Aus dem Chemischen Laboratorium des Pathologischen Instituts Würzburg.)

(Eingegangen am 10. Februar 1922.)

Mit 7 Abbildungen im Text.

Eijkman hat bekanntlich gezeigt, daß es möglich ist, die durch Zufuhr von poliertem Reis bei Vögeln erzeugte Beriberi durch rechtzeitige Zufuhr von Reiskleie oder daraus dargestellten Präparaten zu verhüten bzw. zu heilen. Dasselbe gelingt, wie *Schaumann* gelehrt hat, durch Zufuhr von Hefe. Nach dem Vorgang von *Grijns* wird die Tatsache im Sinne der Insuffizienztheorie gedeutet. Danach enthält die Reiskleie und die Hefe etwas zum Leben Unentbehrliches, das dem polierten Reis fehlt. Wird dieses unbekannte Etwas, wofür die amerikanischen Forscher den Namen B-Vitamin eingeführt haben, dem verfütterten polierten Reis zugesetzt, so wird dieser zu einem vollwertigen Nahrungsmittel ergänzt. Diese Auffassung gestattet es, die bei der Tierberiberi gemachten Erfahrungen widerspruchlos zu deuten, so daß kein Anlaß vorliegt, ihre Richtigkeit zu bezweifeln.

Nun ist es aber trotz aller Bemühungen bisher nicht gelungen, dieses B-Vitamin chemisch zu isolieren. Infolgedessen bleibt es eine offene Frage, ob es wirklich ein einheitlicher chemischer Körper ist oder ein aus zwei und mehr Stoffen zusammengesetzter Komplex, dessen einzelne Bestandteile an sich möglicherweise keine oder nur einen Teil der Wirkung besitzen, welche dem gesuchten „Vitamin“ zugeschrieben wird. Das ist aber bei den Isolierungsversuchen nicht außer acht zu lassen. Handelt es sich nicht um eine einheitliche Substanz, so kann es geschehen, daß man dabei zu Komponenten des Komplexes gelangt, die für sich allein der physiologischen Wirkung entbehren oder nur einen Teil der Vitaminwirkung, z. B. bloß die Wirkung auf das Nervensystem, entfalten.

Es gibt Beobachtungen, die in diesem Sinne gedeutet werden können. So konnte *Abderhalden*¹⁾ in Versuchen mit beriberikranken Tauben polierten Reis durch Zusatz von mit Alkohol oder Aceton erschöpfter Hefe zu einer vollwertigen, dauernde Gesundheit vermittelnden Nahrung ergänzen, während dies durch Zusatz des Alkohol- oder Acetonextrakts aus Hefe nicht gelang, obgleich diese Extrakte ausgesprochene antineuritische Wirksamkeit besaßen. *Abderhalden* weist die naheliegende Vermutung, daß es sich dabei nur um einen quantitativen Unterschied, bedingt durch ungenügende Extraktion gehandelt habe, zurück und nimmt an, daß das Vitamin in der Hefe in 2 Formen vorhanden sei, von denen nur die eine in Alkohol oder in Aceton übergeht. Man kann dahingestellt sein lassen, ob diese Deutung dem Sachverhalt entspricht, denn der Beweis, daß die Hefe durch die genannten Extraktionsmittel erschöpft wird, ist schwer zu führen, er würde zum mindesten eine vorhergehende totale Zertrümmerung sämtlicher Hefezellen voraussetzen. Immerhin ist aber die Möglichkeit, daß das native B-Vitamin kompliziert zusammengesetzt ist, von vornherein nicht auszuschließen. Ich will daher im folgenden, wo es sich hauptsächlich um die Wirkung von gegen die nervösen Symptome der Beriberi wirksamen Extrakte handelt, nur von dem Nachweis von „Antineurit“ sprechen. Ob dieses Antineurit dem ganzen B-Vitamin entspricht, wird sich nach seiner Isolierung ohne weiteres feststellen lassen.

Zum Nachweis von Antineurit im tierischen oder pflanzlichen Material hat man bisher mit Vorliebe Versuche an mit poliertem Reis gefütterten Tauben angestellt. Das Ausbleiben der typischen nervösen Beriberisymptome bei präventiver Darreichung der zu prüfenden Produkte bzw. ihr Zurückgehen auf deren orale oder intramuskuläre Beibringung diente als Nachweis. Minder häufig hat man sich zum gleichen Zwecke des Rattenversuches bedient. Dabei hat man aber als entscheidende Reaktion nicht das Verhüten oder Verschwinden der nervösen Symptome, sondern den Einfluß auf das Wachstum, vor allem die Gewichtszunahme, junger Tiere benützt. In der Tat hat die Zufuhr von Hefe- und Reiskleieextrakten, welche gegen die Taubenberiberi wirksam sind, bei auf B-vitaminarme Kost gesetzten Ratten regelmäßig Erholung und Gewichtszunahme zur Folge. Indes ist zu bedenken, daß ebenso wie das B-Vitamin auch die anderen als Vitamine bezeichneten Stoffe (A- und C-Vitamin) wachstumsfördernd wirken, da der Bedarf junger, wachsender und proliferierender Zellen an lebenswichtigen Stoffen ganz besonders groß ist. Der Wachstumsversuch kann somit nur unter der Bedingung zum Nachweis von Antineurit dienen, wenn die gereichte Nahrung mit Ausnahme des B-Vitamins alle übrigen unentbehrlichen Nährstoffe in zureichender Menge enthält. Und auch

¹⁾ *Abderhalden*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **178**, 260. 1920.

dann bleiben noch Bedenken gegen seine Beweiskraft. Es ist nämlich auch dann nicht ausgeschlossen, daß die Wachstumswirkung der antineuritisch wirkenden Extrakte nicht dem Antineuritin selbst, sondern einem es begleitenden Stoff zukommt. Auch dafür gibt es Anhaltspunkte. *Emmet* und *Luvos*¹⁾ fanden, daß ungeschliffener Reis schon nach 2stündigem Erhitzen im Autoklaven bei Tauben Polyneuritis hervorzurufen imstande war, während er sich im Rattenversuch als kaum geschädigt erwies. Sie schließen aus diesen und ähnlichen Versuchen, daß es möglicherweise ein antineuritisches und ein wachstumbeförderndes B-Vitamin gibt. Danach wäre also der Wachstumsversuch für den Nachweis des Antineuritins nicht ausschlaggebend. Es bleibt allerdings fraglich, ob die Resultate von *Emmet* und *Luvos* nicht einer anderen Deutung zugänglich sind.

Noch vieldeutiger sind die in letzter Zeit in verschiedener Form empfohlenen Nachweismethoden, welche sich auf den gärungs- oder wachstumbefördernden Einfluß des vermeintlichen B-Vitamins bei niederen pflanzlichen Organismen gründen. Da diese Verfahren, so interessant sie an sich sind, direkt nichts über eine antineuritische Wirkung aussagen, mußten sie für meine Untersuchung außer Betracht bleiben.

Da meine Versuche den Nachweis des Antineuritins bei an Beriberi erkrankten Ratten zum Ziele hatten, war zunächst der Beweis zu erbringen, daß antineuritische Extrakte bei ihnen Schutz- oder Heilwirkung entfalten. Nachdem es einmal gelungen war, die typischen Beriberisymptome bei Ratten hervorzurufen, hatte es keine Schwierigkeit, diesen Beweis zu führen. Übrigens habe ich nachträglich gefunden, daß im Lister Institut²⁾ diese Beobachtung bereits gemacht war.

Danach konnte die Prüfung von Hefe, Kleie usw. auf Antineuritin ähnlich wie bei Taubenberiberi gestaltet werden. Die über den klinischen Verlauf der Rattenberiberi gesammelten Erfahrungen³⁾ boten für die methodische Verwendung mancherlei Fingerzeige. So ergab sich bald, daß Heilungsversuche in dem letzten, dem paralytischen Stadium, regelmäßig ohne Erfolg sind. Da die Tiere in diesem Stadium nicht mehr das Futter aufsuchen und zum Maul führen können, ist das Beibringen der zu prüfenden Substanz mit dem gewöhnlichen Futter ausgeschlossen, aber auch das Einflößen per os stößt auf Schwierigkeiten, da die Tiere das Schlucken meist verweigern. Eine subcutane Injektion führt aber in diesem Stadium gewöhnlich binnen kürzester Zeit zum Tode. Man darf dann vermuten, daß die Degeneration des Nervensystems bereits

¹⁾ Journ. of Biolog. Chem. **43**, 265. 1920.

²⁾ Report on the present State of Knowledge concerning accessory food factors (Vitamins). London 1919, S. 18.

³⁾ Vgl. meine I. Mitteilung. Diese Zeitschrift **128**, 540. 1922.

zu weit vorgeschritten ist oder die Gehirnblutungen lebenswichtige Zentren so leistungsunfähig gemacht haben, daß eine Erholung überhaupt nicht mehr erwartet werden kann. Es erinnert dies an eine bei Taubenberiberi wiederholt gemachte und leicht zu bestätigende Erfahrung. Tauben, bei denen die Beriberi nur zu Dauerlähmung, nicht zu Krämpfen geführt hat, erweisen sich bei Heilungsversuchen meist als refraktär.

- Dagegen ist sowohl im ataktischen wie im spastischen Stadium die Beibringung von Antineuritin von ähnlicher „zauberhafter“ Wirkung wie bei Tauben. Ich habe die auf antineuritische Wirkung zu prüfenden Präparate den Tieren meist mit dem vitaminfreien Futter, und zwar in einer einzelnen Tagesdosis beigebracht. Sie wurde innig mit dem sonst verwendeten künstlichen teigähnlichen Futter zusammengebracht und in Brocken oder Pillen den Tieren vorgelegt. Haben vorher die Tiere das künstliche Futter nur ungern genommen oder ganz verschmäht, so kann man es ihnen durch Zusatz von Zucker oder einer Spur Rübenextrakt mundgerecht machen. Doch war dies kaum jemals notwendig. Sie nahmen das antineuritinhaltige Futter meist erst zögernd, dann aber später oft geradezu mit Heißhunger, während sie Futter mit unwirksamen Fraktionen nach einigem Herumkosten stehen ließen. Oft hatte ich den Eindruck, daß die Tiere schon durch den Geschmack die Anwesenheit des Antineuritins im Futter erkennen. Doch ist da allerdings Täuschung nicht ausgeschlossen, da es sich nicht um einheitliche chemische Substanzen, sondern um Präparate handelte, welche nebenher noch allerlei verschieden schmeckende Beimengungen enthielten. Im spastischen Stadium, wo krampfartige Streckung der Extremitäten, Zwangsbewegungen, veitstanzähnliche Störungen, die spontane Nahrungsaufnahme behindern oder ganz unmöglich machen, ist die subcutane Applikation nicht zu umgehen. Die Wirkung tritt dann viel prompter ein. Ich habe gesehen, daß Tiere, die die schwersten Reitbahn- und
- Rollbewegungen oder epileptiforme Krämpfe darboten, sich innerhalb einiger Stunden nach der Injektion beruhigten, zu fressen begannen und nach 24 Stunden ein ganz normales Verhalten zeigten. Allerdings kann man bei subcutaner Applikation auch die Überraschung erleben, daß das Versuchstier in Koma verfällt und sofort oder nach 10–30 Minuten verendet. Ob in solchen Fällen der für ein so kleines Tier immerhin erhebliche Insult durch eine Ausbreitung der Hämorrhagien im Gehirn oder ein schockartiges Versagen des unterernährten Nervensystems und Herzens oder in anderer Weise zum Tode führt, kann zunächst unerörtert bleiben.

Das dauernde Zurückgehen der spastischen und ataktischen Symptome nach Beibringung eines Präparates, bei sonst gleichbleibender B-vitaminfreier Ernährung ist ohne weiteres ein schlagender Beweis für den Gehalt des Präparates an Antineuritin. Es vollzieht sich meist

in 24 Stunden. Nach dieser Zeit, spätestens nach 3 Tagen zeigen die Tiere bis auf die noch vorhandene Abmagerung und einen Rest von Muskelschwäche ein annähernd normales Bild. Appetit, Beweglichkeit, Hautpflege, Munterkeit sind wiedergekehrt. Ein ähnliches Zurückgehen der nervösen Erscheinungen ist ohne Antineurinzufuhr nie zu beobachten. Dieser gebesserte Zustand dauert, je nach der Menge des aufgenommenen Antineuritins 8–14 Tage, worauf sich wie im Prodromalstadium Gewichts- und Appetitverlust, zunehmende Schwäche und schließlich neuerdings ataktische Erscheinungen einstellen. Diese Rezidive zeigt wieder das gewöhnliche Bild der Beriberi und kann durch eine neue einmalige Dosis Antineuritin coupiert werden. Es kommt dann bei gleichbleibender vitaminfreier Ernährung nach einer entsprechenden Pause zu einem dritten Beriberianfall. Doch kann dieses Spiel nicht ins unendliche fortgesetzt werden. Es ist mir nicht gelungen, mehr als 2 Rezidive erfolgreich zu bekämpfen. Über den Ernährungszustand

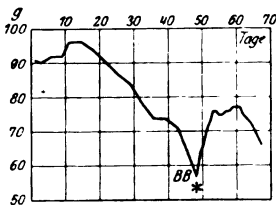


Abb. 1. Ratte D V.

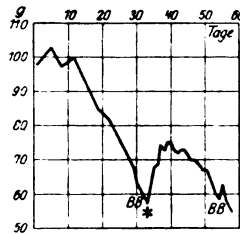


Abb. 2. Ratte E II.

der Tiere während der Heilungsversuche geben in Ermangelung richtiger Stoffwechselversuche die Gewichtsverhältnisse einigen Aufschluß. Die nebenstehenden Kurven, denen ich einen kurzen Krankheitsbericht beifüge, dürften genügen, den mächtigen Einfluß einer kleinen Menge Antineuritin auf den Stoffansatz zu illustrieren.

Ratte D V. Abb. 1. Prodromalstadium 44 Tage. Am 45. Tage der vitaminfreien Ernährung ataktische Symptome. (BB)¹⁾ In den nächsten Tagen zunehmender Verfall, struppiges Aussehen, spastische und veitstanzähnliche Bewegungen, Laufbewegungen nur noch kriechend, vom Reitbahntypus. Freßlust gleich null. Am 48. Tag Injektion von 0,2 ccm eines löslichen Antineuritinpräparats unter die Rückenhaut. Das Tier reagiert darauf mit tetanischer Streckung aller Extremitäten, die bald zurückgeht. Am nächsten Tage beginnende Nahrungsaufnahme; Gangstörungen geringer, doch noch veitstanzähnliche Bewegungen des Kopfes vorhanden. Am 50. Tag ist der Appetit wiedergekehrt. Das Tier hat die Futter-schale mit dem früher verschmähten vitaminfreien Futter ausgeräumt. Die Bewegungen noch zitternd und unstet, aber lebhaft. Von da ab zunehmende Erholung. Vom 61. Tag ab neuerliche Gewichtsabnahme, ohne daß bis zum Abbruch des Versuchs am 67. Tag neuerdings Beriberisymptome aufgetreten wären.

Ratte E II. (Abb. 2). Am 32. Tag der vitaminfreien Ernährung schwere ataktische Symptome. Das Tier ist unfähig zu laufen, sich auf die Seite gelegt,

¹⁾ In den Abbildungen ist der Beginn der nervösen Beriberisymptome durch BB, die Zufuhr von Antineuritin durch Sterne angezeigt.

rasch wieder aufzurichten, schleppt beim Kriechen die Hinterbeine nach, kann aber noch Bissen zum Maul führen. Erhält am 33. Tag ein antineuritische Präparat, höchstens 0,1 g, im gewöhnlichen Futter. Frißt gierig, zeigt aber am gleichen Tag keine Besserung. Über Nacht verzehrt es alles vorgelegte Futter und zeigt am nächsten Tag, abgesehen vom schwankenden Gang keine nervösen Störungen. Von da ab zunehmende Erholung. Macht vom 35. Tage ab, von Schwäche abgesehen, einen ganz normalen Eindruck. Am 40. Tage beginnt neuerlicher Gewichtsabfall, am 56. Tag treten unzweifelhafte ataktische Symptome ein, am 57. Spasmen in allen Extremitäten, am 58. Koma, worauf das moribunde Tier getötet wird.

Wie man sieht, hat die einmalige Zufuhr relativ kleiner Mengen antineuritische Extrakte (0,05–0,1 g) einen steilen Anstieg des Körpergewichts zur Folge. In den mitgeteilten Versuchen betrug er 20 und 18 g, somit 32 und 35% des Körpergewichts. Bei der nachhaltigen Dauer der Gewichtserhöhung kann bloß an gesteigerten Stoffansatz gedacht werden. Nur für die ersten 24 Stunden könnte eine Erhöhung des Gewichts durch das in vermehrter Menge aufgenommene Futter in Frage kommen. Welche physiologischen Vorgänge bei dem Stoffumsatz eine Rolle spielen, nervöse Steigerung des Appetits, vermehrte Sekretion der Verdauungsdrüsen, Beschleunigung der Resorption oder die gesteigerte Assimilation von seiten der unterernährten Gewebe, läßt sich aus der einfachen Tatsache zunächst nicht entnehmen. Die Wiederherstellung der normalen Nervenleistung läßt sich am einfachsten in dem Sinne auffassen, daß das Antineuritin einen dem Nervengewebe durch die Insuffizienz verloren gegangenen Bestandteil direkt ersetzt oder indirekt seine Beschaffung durch den Stoffwechsel ermöglicht. Eine ähnliche Vorstellungsweise würde auch zur Erklärung der Stoffwechsel- und Wachstumswirkung genügen.

Nicht immer ist die Wirkung antineuritische Präparate so schlagend wie in den angeführten Versuchen. Der Gewichtsanstieg kann merklich geringer, die Dauer der Gewichtserhöhung kürzer sein. Wesentlich ist aber die Unterbrechung des regelmäßigen Gewichtsabfalls durch eine länger dauernde, wenn auch nicht immer so beträchtliche Steigerung. Die Zeit vom Anstieg nach der Applikation bis zu dem Tag, wo das Gewicht wieder auf den Stand des Applikationstages herabgesunken ist — ich habe sie in der vorhergehenden Mitteilung Erholungszeit genannt — wechselt naturgemäß mit Dosis und Wirkungswert des angewandten Präparats. In den Versuchen, in denen die nervösen Symptome zurückgingen, habe ich sie nicht unter eine Woche sinken sehen.

Das ganz regelmäßige Zusammenvorkommen von Stoffwechselwirkung und Zurückgehen der nervösen Beriberierscheinungen legt es nahe, diese Wirkung selbst diagnostisch zum Nachweis von Antineuritin zu benützen. In diesem Fall kann man den Versuch schon im Prodromalstadium ausführen, was mancherlei Vorteile bietet. Einmal ist es möglich, über einen gewissen Vorrat an in diesem Stadium

befindlichen Versuchstieren zu verfügen, was bei dem raschen, höchstens mehrtägigen Verlauf des ataktischen und spastischen Stadiums nicht leicht zu erreichen ist. Dann umgeht man dabei die Gefahr, die Versuchstiere durch die bereits erwähnte schockartige Wirkung zu verlieren. Gegen diese Versuchsanordnung könnte allerdings das Bedenken geltend gemacht werden, daß die Wirkung auf Stoffwechsel und Nervensystem nicht notwendig durch dasselbe Agens erfolgt. Indes verliert dieser Einwand bei dauernder Beobachtung sehr an Bedeutung. Die Applikation des Antineuritins im Prodromalstadium hat nämlich neben der Stoffwechsel- zugleich eine Schutzwirkung. Es bleibt dann die Entwicklung der nervösen Beriberisymptome innerhalb der gewöhnlichen Frist aus, und es kommt zu einer Verspätung ihres Auftretens, die fast genau der Erholungszeit entspricht. Nachstehend teile ich einige derartige Versuche mit den zugehörigen Gewichtskurven mit.

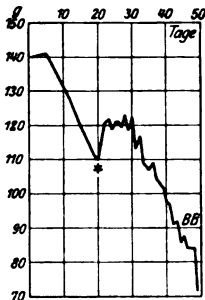


Abb. 8. Ratte E VIII.

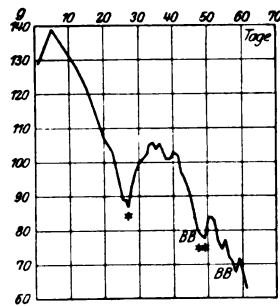


Abb. 4. Ratte E VI.

Ratte E VIII. Männchen. (Abb. 3.) Vor dem Insuffizienzversuch 70 Tage lang bei künstlichem, aber 5% trockene Hefe enthaltendem Futter gehalten, wobei das Gewicht des 68 Tage alten Tieres von 80 auf 140 g ansteigt. Nach Entziehung der Hefe geht das Gewicht, wie Abb. 3 zeigt, nach wenigen Tagen steil abwärts. Am 20. und 21. Tag der Insuffizienz wird dem sonst gleich bleibenden Futter ein Antineuritinpräparat zugesetzt. Es folgt Appetitsteigerung und ein Gewichtsanstieg um ca. 12 g, der am 30. Tag neuerlich einem Abfall Platz macht. Am 33. Tag ist das Gewicht des Applikationstages wieder erreicht (Erholungszeit 13 Tage). Die Gewichtsabnahme schreitet fort. Die Nahrungsaufnahme wird geringer. Am 45. Tag stellen sich ataktische Symptome ein (BB), am 48. Tag Manegebewegung und schwere spastische Erscheinungen, zum Schluß zentrale Lähmung. Tod in der Nacht. (Am 46. und 47. Tag werden verschiedene auf antineuritische Wirkung zu prüfende Präparate dem Futter beigemengt; ohne sichtbaren Erfolg.)

Ratte E VI (männlich). (Abb. 4.) Hatte bis zum Beginn des Insuffizienzversuchs bei heftigem künstlichen Futter ein Gewicht von 129 g erreicht. Auf Entziehung der Hefe geht das Gewicht nach vorübergehendem Anstieg vom 4. Tage ab steil in typischer Kurve herab. Erhält am 27. Versuchstag eine Dosis eines antineuritischen Präparats. In den nächsten Tagen, wo das Gewicht um 19 g in die Höhe geht, ausgesprochene körperliche Erholung. Vom 34. Tage ab erst langsames, dann am 41. Tage rasches Absinken des Gewichts, das am 45. Tag den Stand von 27 erreicht. (Erholungszeit 19 Tage.) Schwäche nimmt zu, Appetit

ab. Am 47. Tag zuerst ataktische, dann spastische Erscheinungen (BB), die sich am nächsten und übernächsten Tag steigern. Am 49. Tag erhält das Tier $\frac{1}{2}$ ccm einer sehr verdünnten Antineuritilösung eingeführt und einen Zusatz davon zu dem kaum berührten Futter. Nach 6 Stunden Besserung. Das Tier beginnt spontan zu fressen, am nächsten Tag sehr erholt, nur schwach und etwas ataktisch. Am 52. Tag anscheinend normal. Am 58. neuerdings ataktisch (BB), Zunahme der Störungen, am 60. Tag Zeigerbewegung, später zentrale Lähmung und Tod.

Ratte D VI. Weiblich. (Abb. 5.) (65 Tage alt.) Gewichtsabfall bis zum 18. Tag gering, dann von gewöhnlichem Verlauf, dabei verminderte Futteraufnahme und zunehmende Schwäche. Am 36. Tag einige Milligramm eines gereinigten Präparates mit dem Futter. Darauf Gewichtszunahme (Erholungszeit ca. 7 Tage). Am 44. Tag ataktische, dann spastische Symptome. Tod am 46. Tag.

Wie aus den umstehenden Kurven hervorgeht, ist der Einfluß der antineuritischen Präparate auf den Gewichtsverlauf derselbe, ob bereits nervöse Beriberierscheinungen vorhergegangen sind oder nicht. Zugleich sieht man, daß der Gewichtsabfall nach Abklingen der antineuritischen Wirkung, also nach Ablauf der Erholungszeit genau den gleichen Verlauf nimmt wie vor der Zufuhr des Antineuritins. Der steigende Schenkel der Kurve erscheint gewisser-

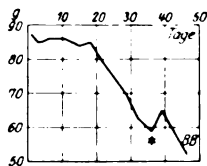


Abb. 5. Ratte D VI.

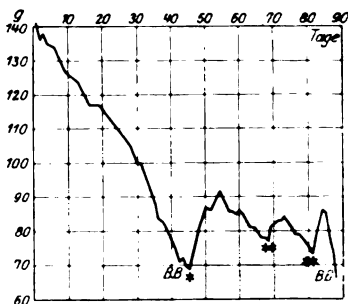


Abb. 6. Ratte H III.

maßen nur um die Erholungszeit nach rechts verschoben. Anscheinend wird das beigebrachte Antineuritin einfach während der Erholungszeit aufgebraucht und es stellt sich dann der gleiche Zustand wie vor dem Heilungsversuch ein.

Auch die Beriberirezidive lassen sich mit Antineuritin bekämpfen. Doch habe ich, wie bereits oben erwähnt, den Eindruck gehabt, daß die Wirkung der antineuritischen Extrakte bei Wiederholung weniger intensiv und anhaltend ist. Auch bei Taubenberiberi hat man ähnliche Erfahrungen gemacht. Der nachfolgend mitgeteilte Versuch an Ratte H III mag als Beispiel für diese Erfahrung dienen. Es kommt dabei aber sicher auf die Dosis des Antineuritins an. Daß auch wiederholte Darreichung sehr ausgiebige Heilwirkung entfalten kann, lehrt z. B. der unten folgende Versuch mit Ratte A X.

Ratte H III (Abb. 6). Männlich, vorher gut genährt, zeigt auf Beriberikost gesetzt sofort typischen Gewichtsabfall, der nach Verlust von nahezu dem halben Körpergewicht zu zunehmender Schwäche und Schwerfälligkeit und am 42. Tag zu ausgesprochener Ataxie führt. Am 45. Tag Beibringung einer Dosis Anti-

neuritin mit dem Futter. Am nächsten Tag ist das Tier munter, frißt gierig das früher verschmähte Futter. Gewichtsanstieg bis zum 54. Tag, dann wieder Abfall. Am 68. Tag Prüfung eines anderen dargestellten Antineuritinpräparats, welches das Gewicht wieder in die Höhe treibt. Die Erholungszeit dauert etwa 10 Tage. Der neuerliche Gewichtsabfall wird am 81. Tag durch eine Dosis eines sonst sehr wirksamen Präparats wiederum, aber nur für kurze Zeit von einem Gewichtsanstieg abgelöst (Erholungszeit nur 7 Tage). Am 87. Tag schwere Beriberierscheinungen mit rasch zunehmender Lähmung. Das Tier wird behufs anatomischer Untersuchung getötet.

Ratte A X (Abb. 7), weiblich; erhält bis zum 65. Tage das gewöhnliche künstliche Futter unter Zusatz einer mäßigen (auf die Dauer unzureichenden) Menge Hefe (3% des trockenen Futtergewichts). Dann wird der Hefezusatz fortgelassen. Es folgt der typische Gewichtssturz, und nachdem das Tier etwa ein Drittel seines Gewichts eingebüßt hat, erhält es am 90. Tag, ohne daß ataktische Symptome eingetreten wären, eine größere Dosis eines antineuritischen Extraktes; dann weiter kleine Dosen bis zum 104. Tag. Der dabei erreichte Gewichtsanstieg erhält sich bis zum 123. Tag. Dann tritt neuerlicher Gewichtssturz ein (Erholungszeit im ganzen 43 Tage). Am 137. Tag Ataxie, dann Kreisbewegungen. Erhält sofort eine

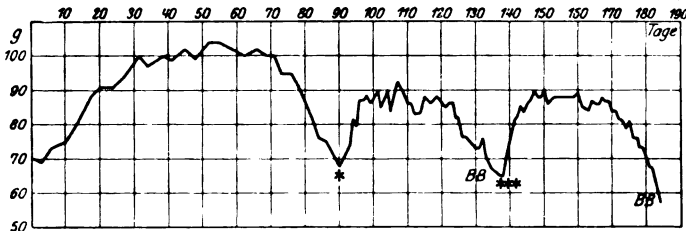


Abb. 7. Ratte A X.

Dosis eines kräftigen Antineuritinpräparats. Am nächsten Tag munter, sehr hungrig. Das Gewicht steigt binnen 9 Tagen um 25 g. Normales Verhalten bis etwa zum 175. Tage, dann wieder zunehmende Schwäche mit Depression. Am 181. Tag nervöse Beriberisymptome, Unfähigkeit, sich nach Umlegen aufzurichten. Rollbewegungen. Die Beibringung eines auf antineuritische Wirkung zu prüfenden Extraktes ohne deutlichen Erfolg. Das Tier hat zwar mehr gefressen, aber die spastischen Symptome bleiben am nächsten und übernächsten Tag bestehen. Am 184. Tag früh tot aufgefunden.

Aus dem Mitgeteilten geht hervor, daß zum Nachweis von Antineuritin im Rattenversuch einmal die direkte Beseitigung der ataktischen und spastischen Symptome benützt werden kann, andererseits die Wirkung auf die Gewichtskurve im Prodromalstadium unter Berücksichtigung des Umstandes, daß hinterher die ataktischen und spastischen Erscheinungen nicht bzw. entsprechend später eintreten.

Der einfache Nachweis des Antineuritins durch die Gewichtssteigerung im Prodromalstadium ist insofern weniger schlagend, als zur Zeit nicht mit Gewißheit ausgeschlossen werden kann, daß in den wirksamen Präparaten neben dem antineuritisch wirkenden Agens ein davon unabhängig wirkendes Stoffwechselagens vorkommt. Zwar spricht die Tatsache, daß bisher die antineuritische Wirkung stets mit der Stoff-

wechselwirkung verknüpft gefunden wurde, gegen eine solche Auffassung. Auch darf nicht übersehen werden, daß der Einfluß auf den Stoffwechsel, die Ansatzförderung, unzweifelhaft von der Erhöhung des Appetits, also einer nervösen Wirkung abhängt. Immerhin lassen sich die hier gegebenen Möglichkeiten nicht so weit übersehen, um mit Sicherheit eine verwickeltere Natur der beobachteten Heilwirkung auszuschließen. Auch darüber wird nur die Reindarstellung des Antineuritins Aufschluß geben.

Ich habe mit Absicht über die Herkunft der verwendeten Antineuritinpräparate nichts Näheres mitgeteilt, da ich mir vorbehalte, nach vorläufigem Abschluß meiner einschlägigen Versuche über deren Darstellung und Eigenschaften im Zusammenhang zu berichten.

Die Kosten der vorstehenden Untersuchung sind aus Zuwendungen bestritten worden, die ich der Preußischen Akademie der Wissenschaften in Berlin und der Samson-Stiftung bei der Bayrischen Akademie der Wissenschaften in München verdanke.

Zur physikalischen Chemie der Alexinbindungsreaktionen.

Von
Julius Kiß.

(Aus dem bakteriologisch-chemischen Laboratorium des städt. allg. Zita-Krankenhauses in Budapest.)

(Eingegangen am 11. Februar 1922.)

In einer früheren Arbeit¹⁾ befaßte ich mich mit dem Bau und mit der Natur des Alexins, indem ich mich bemühte, die physikalischen Veränderungen festzustellen, welche diese Substanz unter dem Einflusse der verschiedensten Agenzien „in vitro“ erleidet. Auf Grund meiner Versuchsergebnisse gewann ich die Überzeugung, daß die Prinzipien und die Methoden der physikalischen Chemie beim Studium des Alexinproblems erfolgreich angewendet werden können. Ich versuche darum an dieser Stelle ebenfalls auf physikalisch-chemischer Grundlage die Frage der spezifischen und der unspezifischen Alexinbindung zu behandeln.

Die folgerechte Durchführung der Prinzipien der physikalischen Chemie hat zur Voraussetzung, daß die behandelten Vorgänge tatsächlich physikalisch-chemische Vorgänge seien. Das Alexin ist also für uns eine kolloide Substanz, welche Veränderungen erleidet und nicht etwa ein Begriff, welchem man je nach den Umständen einen verschiedenen Inhalt zuschreiben kann, wie dies bisher nicht selten geschah. Meine bisherigen Ergebnisse bestätigen diese Annahme: Ich konnte feststellen, daß das Alexin ein eigener Körper ist, bestehend aus kleinsten hydrophilen Kolloidteilchen, welche jedoch ohne Verlust ihrer charakteristischen Eigenschaften nicht teilbar sind. Im Laufe meiner bisherigen Untersuchungen berührte ich auch schon die Frage der unspezifischen Alexinbindung und ich zeigte, daß die Alexinbindung nach den Regeln der physikalischen Adsorption verläuft. Ich stelle mir zur Aufgabe, zu beweisen, daß diese Regel für jede Art der Alexinbindung, also auch für die spezifische Bindung, gültig ist. Ich will besonders nachweisen, daß, wenn eine quantitative Behandlung der Frage der Alexinbindung überhaupt durchführbar ist, diese nicht anders als auf

¹⁾ Alexin und Antialexin. Jena 1921 bei Gustav Fischer.

Grundlage der Annahme, daß die Alexinbindung ein Adsorptionsvorgang ist, möglich wird.

Ohne Zweifel ist die Adsorption des Alexins ein komplizierter Vorgang. Das Problem ist nicht darum kompliziert, weil wir die Natur des Alexins heute noch immer nicht genügend kennen, sondern weil die verschiedensten Einflüsse und verschiedene Adsorbentien zu gleicher Zeit auf das Alexin einwirken. Spezifische und unspezifische Bindungen verlaufen zu gleicher Zeit nebeneinander und die vermischten Substanzen beeinflussen sich gegenseitig. Meine Analyse hat den Zweck die verschiedenen Vorgänge auf Grundlage quantitativer Messungen voneinander zu trennen.

Ich trachtete die Regeln der Alexinbindung von den einfachsten Beispielen abzuleiten. Das Alexin wird durch die zu Adsorptionsversuchen allgemein angewendeten Adsorbentien adsorbiert; von den Versuchen, welche ich mit solchen Adsorbentien ausführte, berichtete ich schon in der zitierten Arbeit. Von dem mitgeteilten wird einiges hier wiederholt werden.

Wird einem alexinhaltigen Serum Kaolin in entsprechender Dosis hinzugefügt, so verliert das Serum seine Aktivität. Das chemisch indifferente Kaolin vermag nicht anders als durch die Oberflächenenergien zu wirken. Die Inaktivierung ist demnach die Folge der reinen Adsorption. Das gleiche ist der Fall bei Anwendung schwächer wirkender Adsorbentien, wie z. B. von Tierkohle oder Filtrierpapier. Die Inaktivierung wird durch die reine Adsorption herbeigeführt; nur muß bei Anwendung des schwachen Adsorbens das Serum vorangehend mittels physiologischer Kochsalzlösung verdünnt und lange Zeit hindurch filtriert werden. In allen Fällen ist die Adsorption ein irreversibler Vorgang: wir verfügen über keine Mittel, durch welche wir das einmal adsorbierte Alexin in aktivem Zustande wiedererhalten könnten. Nun werden Gleichgewichtszustände bloß bei reversiblen Vorgängen erreicht; ein irreversibler Vorgang kommt bloß zum Stillstand, wenn die Substanz, welche die irreversible Veränderung erleidet, gänzlich verschwunden ist, wenn demnach — in unserem Falle — alles Alexin adsorbiert wurde. Die Beobachtungen über die Alexinadsorption beziehen sich daher nie auf wahre Gleichgewichtszustände, sondern bloß auf die Mengen des während einer bestimmten Zeitdauer adsorbierten Alexins, d. h. auf Adsorptionsgeschwindigkeiten.

Im Serumgemisch sammelt sich das Kaolin rasch am Boden des Gefäßes an; das Gemisch muß immer wieder umgeschüttelt werden. Die Verteilung des Adsorbens ist aber nie ganz gleichmäßig und genauere quantitative Bestimmungen können weder mit Kaolin noch mit anderen der bekannten Adsorbentien ausgeführt werden. Die Feststellung ist aber wichtig, daß die Adsorption an und für sich, d. h. ohne Mitwirkung

anderer Energieformen zur völligen Zerstörung des Alexins führt. Nach meinen unten mitgeteilten Beobachtungen besitzt diese Regel eine allgemeine Gültigkeit, ist also für komplex gebaute Adsorbentien — für Bakterien, für Extrakte usw. — anwendbar. Dies geht schon aus den folgenden Versuchen hervor, in welchen lebende Bakterien als Adsorbens angewendet wurden.

Daß Bakterien das Alexin adsorbieren, ist eine bekannte Tatsache. Beim Studium dieses Vorganges sind aber bisher keine quantitativen Messungen ausgeführt worden. Solche Messungen wurden von mir bei Versuchen mit Typhusbacillen ausgeführt. Einer bekannten Menge Typhusbacillen wurde alexinhaltiges Serum hinzugefügt und der Alexinverlust nach einer entsprechenden Zeitdauer bestimmt.

Die quantitative Feststellung der Größe des Alexinverlustes erfolgte nach der folgenden Methode.

Es wurde eine Alexinskala zubereitet; 10 Glasröhrchen wurden mit verschiedenen Mengen eines frischen Meerschweinchenserums versetzt. Das erste Röhrchen enthielt 10 Alexineinheiten, jedes folgende Röhrchen um 10 Einheiten mehr, das 10. Röhrchen also 100 Einheiten. Als Alexineinheit wurde — wo nicht anders angegeben — das Alexin von 0,00025 ccm Meerschweinchenserum genommen. Das Volum der Gemische betrug 1,5 ccm.

Die Bindungsversuche mit Alexin wurden gewöhnlich mit Gemischen ausgeführt, welche 100 Alexineinheiten enthielten. Wenn in diesem Gemische das Alexin durch irgendeine Reaktion beeinflusst wird, so nimmt die aktive Menge des Alexins ab; bleibt noch genügend Alexin zurück, so lösen sich die zugesetzten sensibilisierten Blutkörperchen auf, die Hämolyse erfolgt aber langsamer. Werden sensibilisierte Blutkörperchen zu gleicher Zeit den Röhrchen der bereitstehenden Meßskala zugesetzt, so kann leicht festgestellt werden, welches Glied der Skala es ist, in welchem die Hämolyse mit der gleichen Geschwindigkeit vor sich geht. Erfolgt dann die Hämolyse in einem besonderen Falle langsamer als z. B. im 6. Glied der Skala (= 60 Einheiten), wird jedoch früher komplett als im Röhrchen mit 50 Einheiten, so werden 55 aktive Einheiten verzeichnet; demnach wurden 45 Einheiten infolge der Alexinbindung zerstört. Differenzen unter 5 Einheiten blieben unberücksichtigt. Die Messungen erfolgten gewöhnlich bei Zimmertemperatur.

Diese Methode der Alexinbestimmung wurde hier also zunächst bei den Versuchen mit Typhusbacillen angewendet.

Die Menge der Bacillen mußte derart beschaffen sein, daß der Alexinverlust weder zu gering noch zu hoch kommen durfte. Nimmt man z. B. 2 Ösen einer 24stündigen Agarkultur zu 100 Alexineinheiten in 1,5 ccm Volum, so wird alles Alexin fast momentan adsorbiert, die Hämolyse wird vollkommen gehemmt. Die Adsorptionsfähigkeit einer und der-

selben Kultur zu verschiedenen Zeiten kann als ziemlich konstant betrachtet werden; in bezug auf die Adsorbierbarkeit des Alexins bestehen hingegen, wie es scheint, einige Unterschiede. Folgender Versuch zeigt den zeitlichen Verlauf der Alexinbindung und außerdem die Beeinflussung dieses Vorganges durch die Temperatur. Gemische, welche je eine halbe Normalöse Typhusbacillen enthielten, wurden im Wasserbade bei 8° resp. bei 37° Temperatur gehalten. In bestimmten Zeitintervallen wurde je eine Probe auf ihren Alexingehalt geprüft und dabei folgendes festgestellt:

Der Alexinverlust, in Einheiten berechnet, betrug

c	x (gefunden) bei 8° C	x (berechnet) bei 37° C
nach 30 Minuten . .	10	75
nach 1 Stunde . . .	30	95
nach 2 Stunden. . .	50	100

Die Beobachtung lehrte weiter, daß auch bei 8° alles Alexin schwindet, wenn nur die Beobachtung auf einen genügend langen Zeitraum — gewöhnlich 6—8 Stunden — ausgedehnt wird. Bei 37° war das gesamte Alexin schon nach 2 Stunden verschwunden, während bei 8° zu dieser Zeit noch die Hälfte des Alexins im aktiven Zustande erhalten blieb.

Die Adsorption des Alexins durch Typhusbacillen hat demnach in allen Fällen die Zerstörung des Alexins zur Folge. Nach einer genügend langen Einwirkungsdauer ist die Inaktivierung immer vollständig und der Vorgang wird mit der Zunahme der Temperatur in hohem Maße beschleunigt.

In der alltäglichen Praxis wird in der Weise vorgegangen, als wenn eine Bindungsreaktion nach Verlauf der „ersten Phase“ — gewöhnlich eine Stunde bei 37° im Brutschrank — zum Abschluß gelangen würde. Wir müssen stets vor Augen halten, daß die Adsorption des Alexins durch Typhusbacillen ebenso wie jede andere Bindungsreaktion immer zur vollständigen Alexinzerstörung führt, vorausgesetzt, daß für die Alexinadsorption eine genügend lange Zeit bei einer nicht allzu niedrigen Temperatur zur Verfügung steht. Bei den Typhusbacillen kann diese Tatsache allerdings sehr leicht festgestellt werden. Nun wollte ich weiter erfahren, ob bei der Adsorption des Alexins durch Typhusbacillen eine mathematische Formel anwendbar sei, und ich machte den Versuch mit der Anwendung der bekannten Adsorptionsformel. Es war mir zwar genügend bekannt, daß diese Formel bisher für Adsorptionsgleichgewichte angewendet wird, wenn aber auf diese Weise Gesetzmäßigkeiten nachgewiesen werden, so wird man wohl gegen mein Verfahren nichts einzuwenden haben. Ich führte Bindungsversuche mit Typhusbacillen aus, indem ich mich an die Versuchsanordnung der gewöhnlichen Bindungsreaktionen hielt.

4 Röhrchen wurden mit je einer halben Öse Typhusbacillen und wechselnden Alexinmengen versetzt: mit 100, 200, 300 und 500 Einheiten. Das Volum der Gemische betrug 1,5 ccm. Nach einer Stunde wurde die Menge des adsorbierten Alexins bestimmt. Zu diesem Zwecke wurde jedem Röhrchen so viel Flüssigkeit entnommen, als welche ursprünglich 100 Alexineinheiten enthielt; diese Flüssigkeitsmenge wurde auf 1,5 ccm ergänzt, einige Zeit bei Zimmertemperatur stehen gelassen und nachher die Titrierung ebenfalls bei Zimmertemperatur ausgeführt.

Aus den erhaltenen Daten wurde der Alexinverlust des ganzen Inhaltes der einzelnen Röhrchen berechnet. Das Ergebnis ist in der folgenden Tabelle zusammengefaßt.

c	x (gefunden)	x (berechnet)
100	95	97
200	170	163
300	225	220
500	325	322

In dieser wie auch in den folgenden Tabellen bedeutet c die ursprünglich zugesetzte — x die adsorbierte Alexinmenge. Und zwar enthält die zweite Kolumne x -Werte, welche sich durch die direkte Bestimmung ergaben; in der dritten Kolumne sind die auf Grund der Adsorptionsformel berechneten Werte angegeben.

Die Übereinstimmung der gefundenen und der berechneten Werte ist sehr befriedigend, die Formel ist also passend, und ich finde es für angemessen, an dieser Stelle einiges in bezug auf die Adsorptionsformel in Erinnerung zu bringen.

Diese Formel wurde von *Freundlich* zuerst empirisch festgestellt. Sie kann hier in der folgenden vereinfachten Form benützt werden:

$$x = k c^m.$$

Will man in einem besonderen Falle prüfen, ob ein Adsorptionsvorgang vorliegt, so trägt man die Logarithmen der einander entsprechenden c - und x -Werte als Abscissen resp. als Ordinaten in einem Koordinatensystem auf und man verbindet die Schnittpunkte miteinander. Handelt es sich in dem betreffenden Falle um einen Adsorptionsvorgang, so ist die Kurve, welche diese Schnittpunkte verbindet, eine gerade Linie. *Freundlich* und *Wilhelm Ostwald* nehmen an, daß die Bedingungen für einen Adsorptionsvorgang erfüllt sind, wenn die Konstruktion eine solche Gerade ergeben hat. Die Verlängerung dieser Geraden schneidet die Ordinatenachse in einer Entfernung vom Nullpunkte, welche gleich $\log k$ ist. Die Tangente der Neigungswinkel hat mit dem Exponenten m den gleichen Wert. Die konstruierte Kurve ist durch die Werte von m und k eindeutig bestimmt.

Auf Grund der gewöhnlichen Adsorptionskurven gewinnt man einen gewissen Eindruck von dem Adsorptionsvorgang; quantitative Vergleiche können jedoch bloß auf Grund der m - und k -Werte durchgeführt werden. Wird der Charakter des Adsorptionsvorganges verändert, so kommt das in der Veränderung des m -Wertes zum Ausdruck. k ist bloß ein Intensitätsfaktor, d. h. seine Veränderungen stehen mit der Intensität des Vorganges im Zusammenhange, welche auch ohne die Veränderung des Charakters entstehen können.

In dem oben mitgeteilten Versuch ergaben die Logarithmen der miteinander zusammenhängenden c - und x -Werte bei der graphischen Konstruktion eine Gerade und es wurden die Werte bestimmt: $m = 0.74$ und $k = 3,30$. Die gefundenen und die auf Grund der *Freundlich*schen Formel berechneten Werte stimmen gut überein, die Adsorption des Alexins durch die Typhusbacillen folgt demnach den Regeln der Adsorption. Der Alexinverlust ist von der Konzentration des Alexins abhängig; außerdem ist er, wie früher gezeigt wurde, auch von der Zeit abhängig.

Da bei Hämolyseversuchen die Fehlerquellen viel größer sind als sie bei Adsorptionsversuchen in der physikalischen Chemie zu sein pflegen, müssen wir bei unseren Folgerungen vorsichtiger umgehen; wir halten uns aber an das Prinzip, daß Alexinbindungsversuche als Adsorptionsversuche aufgefaßt und miteinander verglichen werden können.

So stelle ich nun gleich die Frage, auf welche Weise sich der Adsorptionsvorgang ändert, wenn zum Versuch keine reine Bacillenemulsion, sondern die mit einem agglutinierendem Serum vorbehandelten Bacillen angewendet werden. Ein solches vom Kaninchen stammendes Serum, welches den Titer 1 : 10 000 besaß, wurde 500fach verdünnt und mit dem gleichen Volum einer Bacillenemulsion vermischt. Das Gemisch enthielt je eine Öse Typhusbacillen in 1 ccm Volum; zu den Versuchen wurde 0,25 ccm dieser Mischung — enthaltend eine viertel Öse der mit Agglutininen beladenen Bacillen — angewendet. Der Adsorptionsversuch mit Alexin ergab folgendes:

c	x (gefunden)	x (berechnet) $m = 0.82 \quad k = 2,26$
100	95	98,9
200	180	174,5
300	250	243
500	375	370

Die charakteristischen Merkmale der Adsorption sind demnach auch hier aufzufinden. Der Hauptunterschied beim Vergleich mit dem vorigen Versuch besteht in der erhöhten Adsorptionsfähigkeit der Bacillen, welche hier in geringer Menge zugesetzt nahezu den gleichen Effekt zeitigen.

Theoretisch wichtig ist nun die Frage, ob hier die Erhöhung der Adsorptionsfähigkeit durch die Behandlung der Bakterien mit den Agglutininen zustande kam oder ob spezifische, alexinbindende Immunkörper die Adsorption herbeiführen. Ich habe eigens darum „agglutinierendes“ Serum zum Versuch verwendet, um dieser Frage nicht ausweichen zu müssen, obwohl ich wußte, daß ein solches Serum gewöhnlich auch „bactericide“ Immunkörper enthält.

Nach der *Ehrlich*schen Hypothese sind die Agglutinine keine Amboceptoren; darum können sie auf die Alexinbindung angeblich keinen Einfluß haben. Die bactericiden Immunsustanzen sind im Sinne *Ehrlich*s Amboceptoren. In dem erörterten Falle kann darum auch eine „spezifische“ Bindung erfolgen, verursacht durch die Vereinigung des Antigens mit dem entsprechenden Immunkörper. Ich lasse es dahingestellt, ob die Agglutinine von den anderen alexinbindenden Substanzen ihrer Natur nach gänzlich verschieden sind. Ich bin jedoch der Ansicht, daß die Adsorption des Alexins durch Agglutinine ebenfalls befördert wird. Für diese Annahme sprechen folgende Gründe:

Die unveränderten Bacillen adsorbieren stark das Alexin und die Veränderung, welche dieselben bei der Agglutination erleiden — die Veränderungen der Konsistenz, die Ausflockung und die damit einhergehenden Veränderungen der Dispersität der kolloidal gelösten Substanzen — haben allerdings auf den Adsorptionsvorgang einen Einfluß, welcher in einer Erhöhung des Adsorptionsvermögens besteht. Das Alexin wird nämlich bei Ausflockungserscheinungen immer in Mitleidenschaft gezogen.

Ferner habe ich in Versuchen, von welchen an anderem Orte berichtet werden soll, beobachtet, daß die Agglutination der Bacillen bei Gegenwart von Alexin in hohem Maße befördert wird, was ebenfalls auf die innige Beziehung des Alexins zu den Agglutininen hinweist.

Die Agglutinine dürfen daher nicht unberücksichtigt bleiben. Sie erhöhen das Adsorptionsvermögen der Bacillen und tragen zur Bindung bei. Allerdings spielen bactericide und andere alexinbindende Immunsustanzen eine Rolle, ja vielleicht die wichtigere Rolle. Wenn aber in dem obigen Falle eine spezifische Alexinbindung, eine *Bordet-Gengou*-sche Bindung überhaupt stattfindet, so können aus den Versuchsergebnissen der kleinen Tabelle für die Natur der *Bordet-Gengou*-schen Bindung wichtige Konsequenzen gezogen werden. Wir sehen nämlich, daß infolge der Vorbehandlung der Bacillen hauptsächlich eine Erhöhung *des Adsorptionsvermögens* erreicht wurde. Die Typhusbacillen nehmen infolge der Beladung mit „spezifischen“ Substanzen keine neuen Eigenschaften an, ihre Fähigkeit, das Alexin zu adsorbieren, wird durch die Vorbehandlung bloß erhöht.

Kurz gefaßt: Weder die Agglutinine noch die bactericiden Immunkörper noch andere alexinbindende Körper haben einen wesentlichen Einfluß auf den *Charakter* des Vorganges (auf den Wert des Exponenten m); die Intensität des Vorganges wird hingegen äußerst stark beeinflußt. Wohl haben wir es zu gleicher Zeit mit verschiedenartigen Veränderungen des Mediums zu tun, wenn aber bloß gewisse Arten der Alexinbindung Adsorptionsvorgänge wären und die spezifische Bindung durch andere Energieformen, etwa durch chemische Affinitäten, bedingt wäre — eine Annahme, welcher man nicht selten begegnet — so wäre zu erwarten, daß dies in einer Störung des regelmäßigen Verlaufes der Adsorptionskurve zum Ausdruck komme. Das ist aber nicht der Fall: wenn der Verlauf einmal unregelmäßig ist, so haben sich wahrscheinlich Versuchsfehler eingeschlichen. Selbst wenn die spezifische Reaktion äußerst stark ist, so daß die anderen, „unspezifischen“ Bindungen in ihrer Bedeutung ganz zurücktreten, behält die Bindung die charakteristischen Merkmale eines Adsorptionsvorganges. Dies gilt nicht bloß für die Versuche mit Typhusbacillen, sondern für die Bindungsreaktionen im allgemeinen.

Die spezifische Reaktion wird demnach bedingt durch eine Erhöhung der Adsorptionsintensität, demnach durch die quantitative Veränderung einer Eigenschaft, welche das Antigen auch sonst besitzt. Das ist die Regel. Ein einziges Antigen bildet Ausnahme von dieser Regel: die Blutkörperchen; und gerade dieser Ausnahmefall schwebte immer vor den Augen der Forscher, von welchen die bekannten Hypothesen über die Bindungsvorgänge stammen. Es wird gewöhnlich betont, daß die Bindung des Alexins eben erst durch die Verankerung des Antikörpers an das Antigen ermöglicht werde. Diese Behauptung ist richtig. Solange Blutkörperchen als Antigen angewendet werden.

Bedenken wir, daß Blutkörperchen und Alexin im kreisenden Blute nebeneinander bestehen und daß, wenn die Adsorption des Alexins im Blute fortwährend vonstatten ginge, Alexin und Blutkörperchen sich am Ende gegenseitig vollkommen zerstören würden oder zumindest das Alexin durch die Adsorption fortwährend zerstört werden müßte, so wird uns die Tatsache, daß Blutkörperchen und Alexin sich gegenseitig nicht beeinflussen, als sehr zweckmäßig erscheinen. Nach meinen eigenen Beobachtungen ist das *Antialexin* diejenige Substanz, welche die Adsorption des Alexins im kreisenden Blute verhindert. Ein Antigen, welches, wie das Blutkörperchen, kein Alexin adsorbiert, stellt allerdings bloß den Ausnahmefall dar.

Seitdem die Bindungsreaktionen nach dem zuerst von *Bordet* festgestellten Prinzip ausgeführt werden, hat man sich eigentlich mit der Frage der Natur der wirkenden Energien nie sehr eingehend beschäftigt. Wohl hat schon *Bordet* behauptet, daß die Alexinbindung eine Art

Adsorption ist, lieferte aber für diese Annahme keine Argumente. Wie eine Art „deus ex machina“ tritt die Bindung auch in seinen Schilderungen auf, als etwas unerwartet Neues, für welches die Bedingungen physikalisch gar nicht gegeben waren. Tatsächlich handelt es sich aber um Unterschiede, welche mehr quantitativer Natur sind. Bei den Blutkörperchen zwar nicht, doch bei sämtlichen anderen Bindungsreaktionen, besonders bei denjenigen, welche für die Praxis wichtig sind, können wir die gleiche Gesetzmäßigkeit nachweisen; Antigene binden schon an sich das Alexin und durch Hinzutritt des Antikörpers oder durch andere spezifische Reaktionen wird dieses Vermögen des Antigens bloß erhöht.

Ich verharre vorläufig bei den Typhusbacillen und will die Verhältnisse der Alexinbindung jetzt bei Verwendung des Serums eines Typhusrekonvaleszenten prüfen.

Bekanntlich wird das menschliche Serum bei solchen Bindungsreaktionen in einer etwas größeren Menge — hier 0,1 ccm — angewendet. In dem vorhin beschriebenen Versuch mit Kaninchenserum war die Menge des letzteren gering, so daß die seitens der Serumbestandteile auftretenden besonderen Wirkungen gar nicht in Betracht kamen. Wird nun das alexinhaltige Meerschweinchenserum mit 0,1 ccm Menschenserum versetzt, so wird ein beträchtlicher Teil des Alexins durch das Serum gebunden und zwar durch das Antialexin. Wenn also das Menschenserum keine spezifischen Stoffe enthält, so wird das Alexin durch zweierlei verschiedene Adsorbentien gebunden: durch das Antigen — hier Typhusbacillen — und durch das normale Antialexin. Die Frage ist demnach schon ziemlich kompliziert, selbst wenn wir vorläufig die spezifische Bindung ausschließen. Fassen wir darum zunächst die Verhältnisse ins Auge, welche beim Vermischen eines normalen Menschenserums mit dem alexinhaltigen Meerschweinchenserum entstehen.

Das Problem ist nicht neu: ich behandle die Frage der „antialektischen“ oder der „antikomplementären“ Wirkung des Menschenserums. Bloß in der Auffassung dieser Erscheinung liegt etwas neues, da dieselbe von mir ebenfalls auf Adsorptionsvorgänge zurückgeführt wird.

Bei der Erklärung der antialektischen Wirkung wird entweder zu der *Komplementoidhypothese* Zuflucht genommen oder es werden *Antily sine* zur Erklärung herbeigezogen. Komplementoide sind angeblich die auf irgendeine Art — gewöhnlich durch Erhitzung — inaktiv gewordenen Komplementteilchen, welche von den sensibilisierten Blutkörperchen gebunden werden. Sie sollen die Affinitäten für sich in Beschlag nehmen, durch welche sonst die aktiven Komplementteilchen gebunden werden und, da sie selbst inaktiv sind, verhindern sie die Hämolyse. Eine gegebene Menge des Komplementoids sollte demnach

unter allen Umständen eine äquivalente Menge des Komplementes in seiner Wirkung hemmen. Ähnlich stellt man sich auch die Wirkung des Antilylins vor. In beiden Fällen, bei den Komplementoiden sowohl wie bei den Antilysinen, kommt eine Auffassung zum Ausdruck, als wenn es sich um eine Art chemischer Substitutionen handeln würde. Ferner wird angenommen, daß die unspezifischen alexinfeindlichen Wirkungen durch eine bestimmte Alexinmenge abgesättigt werden können und wenn sie einmal abgesättigt sind, die spezifische Bindung des Alexins nicht mehr beeinflussen. In dieser Auffassung liegt ein Irrtum. Die antialektischen Wirkungen des Serums sind durch Adsorptionsvorgänge bedingt und folgen eigenen Gesetzen.

Schon *Hans Buchner* hatte sich mit der Frage befaßt, welchen Einflüssen das Alexin bei der Vermischung artfremder Seren ausgesetzt ist. Als Regel konnte er die Abnahme der Alexinwirkung feststellen und erklärte die Abnahme des bactericiden Vermögens durch die Verringerung der Alexinmenge, was zweifellos richtig ist. Es ist eine Frage für sich, ob die Hypothesen *Buchners* auch in anderen Beziehungen richtig waren; allerdings hatte *Buchner* die gegenseitige Beeinflussung artfremder Seren richtig erkannt, d. h. die Alexinbindung, welche die gewöhnlichste Form der unspezifischen Bindung ist und welche richtig erkannt werden muß, will man von der spezifischen Bindung ebenfalls eine richtige Vorstellung gewinnen.

Die spezifischen Alexinbindungsreaktionen werden gewöhnlich nach ihren Entdeckern bezeichnet; ich halte es darum für angemessen, daß die gewöhnlichste Form der unspezifischen Bindung, welcher wir bei jedem Schritt von neuem begegnen, ebenfalls nach seinem Entdecker, *Hans Buchner*, bezeichnet werde.

Buchner führte bekanntlich bei seinen Alexinforschungen Bactericideversuche aus. Nun sind die Hämolyseversuche auch zur Untersuchung der *Buchnerschen* Alexinbindung besser geeignet. Auf Grund meiner Versuchsergebnisse kann auch das Wesen der Erscheinung klarer formuliert werden: Bei Vermischung artfremder Seren ist infolge der *Buchnerschen* Alexinbindung der gesamte Alexingehalt immer geringer, als man dies auf Grund der an den Seren getrennt ausgeführten Bestimmungen erwarten könnte.

In der ersten Kolumne der folgenden Tabelle ist die Aktivität angegeben, welche 0,1 cem Menschenserum ohne jeden fremden Zusatz besitzt; diese Aktivität ist in Meerschweinchenalexineinheiten ausgedrückt, damit ein einheitlicher Maßstab angewendet werde. In der zweiten Kolumne ist die Aktivität eines Gemisches angegeben, welche aus 0,1 cem Menschenserum und 0,025 cem Meerschweinchen Serum — 100 Einheiten Alexin — besteht. Die Angaben beziehen sich auf 5 verschiedene Menschenserum.

Nr.	Aktivität des Menschenserums allein	Aktivität des Gemisches
1	50	90
2	35	80
3	20	80
4	20	70
5	5	25

Aus diesen Befunden geht mit aller Klarheit hervor, daß das Gemisch des Menschenserums mit Meerschweinchenserum eine geringere Aktivität besitzt als das Meerschweinchenserum allein. Die angeführten Beispiele sind übrigens aus einer längeren Untersuchungsreihe herausgegriffen. Ab und zu waren Menschenserum in frischem Zustande stärker aktiv und auch das Gemisch wies mehr als 100 aktive Einheiten auf. Ein Alexinverlust war auch in solchen Gemischen zu verzeichnen. Es kamen aber auch Fälle vor, in welchen die antialektische Wirkung des Menschenserums äußerst stark erhöht war, so daß geringe Serummengen genügten, um 100 Meerschweinchenserumeinheiten gänzlich inaktiv zu machen. Wohlgemerkt wurden diese Versuche mit nativem, unerhitztem Menschenserum ausgeführt. Das unerhitzte Menschenserum enthält demnach diejenige Substanz, welche das Alexin des Meerschweinchenserums bindet. Aus den folgenden Versuchen geht hervor, daß diese Bindung ein Adsorptionsvorgang ist.

Die Versuche wurden mit drei verschiedenen Menschenserum ausgeführt. 0,1 ccm Menschenserum wurde mit wechselnden Mengen Meerschweinchenserum versetzt. Das Menschenserum wurde zu diesen Versuchen in inaktiviertem Zustande verwendet; das antialektische Vermögen des Serums wird zwar durch die Inaktivierung herabgesetzt, beim gewöhnlichen Verfahren — Erhitzung auf 56° C 30 Minuten lang — bleibt aber das Antialexin des Serums zum größten Teil erhalten. Das Alexin des Menschenserums wird hingegen zerstört und dem Antialexin des Menschenserums steht bloß das Alexin des Meerschweinchenserums gegenüber.

Nr.	c	x (gefunden)	x (berechnet)
			$m = 0,76, k = 0,95$
1	100	30	31
	200	50	53
	300	65	72
	500	100	106
			$m = 0,77, k = 1,82$
2	100	60	63
	200	110	107
	300	150	147
	500	225	220
			$m = 0,76, k = 2,46$
3	100	75	82
	200	135	137
	300	180	187
	500	275	276

Diese Ergebnisse beweisen zunächst, wie irrtümlich die Auffassung ist, als wäre das antialektische Vermögen irgendeines Serums durch eine feststehende Menge des Alexins abzusättigen. Im allgemeinen vermag das Menschenserum um so mehr Alexin zu binden, je mehr ihm zur Verfügung steht. Ist im Gemische viel Alexin vorhanden, so wird entsprechend mehr gebunden. Die Menge des gebundenen Alexins steht ferner zur Konzentration desselben in einer gesetzmäßigen Beziehung, für deren Ausdruck die Adsorptionsformel geeignet ist.

In den mitgeteilten 3 Versuchsreihen ist der Wert des Exponenten m ziemlich gleich; die k -Werte sind dagegen verschieden. Das sagt so viel aus, daß der Charakter des Adsorptionsvorganges unverändert bleibt, ebenso wenn das antialektische Vermögen des Serums groß, wie wenn dasselbe gering ist. Ein jedes Serum enthält dasselbe Antialexin, jedoch in wechselnden Mengen.

Bei meinen zahlreichen anderen diesbezüglichen Versuchen schwankten die Werte oft zwischen 0,74 und 0,80. Es liegt in der Natur der Sache, daß ich nicht angeben kann, ob es sich bloß um die bei dieser Reaktion unvermeidlichen Versuchsfehler handelte.

Die *Buchnersche* Alexinbindung unterscheidet sich von den anderen hier behandelten Adsorptionsvorgängen durch eine besondere Eigenschaft; diese besteht darin, daß der Alexinverlust schon kurze Zeit nach der Zubereitung der Gemische hohe Werte erreicht und die Alexinmenge nachher sehr langsam abnimmt. Es hat somit den Anschein, als wenn der unmittelbar eintretende Zustand ein wirklicher Gleichgewichtszustand wäre, wie dies sonst bei reversiblen Vorgängen vorkommt. Da wir jedoch das gebundene Alexin nicht wieder in freiem Zustande erhalten können, so können wir kaum von einer Reversibilität sprechen. Allerdings hat die Adsorptionsverbindung des Alexins mit dem Antialexin gewisse Eigenheiten, auf welche ich nicht näher eingehe. Das Hauptgewicht muß hier darauf gelegt werden, daß der Vorgang in einem Adsorptionsvorgang besteht. Die Anwendbarkeit der Adsorptionsformel spricht deutlich genug für diese Annahme.

Durch die Analyse sind wir zu der Unterscheidung von 2 Adsorptionsvorgängen gekommen: Die Bacillen adsorbieren das Alexin und das Antialexin des Menschenserums adsorbiert das Alexin. Würden nun diese Vorgänge bei gleichzeitiger Vermischung der Bacillen mit Menschenserum und Alexin nebeneinander, voneinander jedoch unbeeinflusst verlaufen, so würde dadurch unser Bestreben, das Problem der spezifischen Bindung auf mathematisch-physikalischer Grundlage zu behandeln, sehr erleichtert werden. Da könnten wir in Einzelversuchen bestimmen, wieviel Alexin durch die Bacillen und wieviel durch das Antialexin gebunden wird. Wird dann in der Mischung der Bacillen mit Menschenserum mehr Alexin gebunden, als es der Summe der aus

den Einzelversuchen gewonnenen Werte entspricht, so wäre auf diese Weise die spezifische Bindung quantitativ bestimmt. Tatsächlich ist aber eine solche quantitative Methode undurchführbar. In der Mischung treten Hemmungen auf; namentlich wird das Adsorptionsvermögen der Typhusbacillen durch besondere Bestandteile des Serums herabgesetzt. Das Menschenserum enthält nämlich nicht bloß alexinbindende Stoffe, sondern auch solche, die die Bindung des Alexins durch die Bacillen verhindern.

Daß dem so ist, und daß nicht etwa das Antialexin durch die Typhusbacillen in seiner Wirkung verhindert wird, geht aus den folgenden Versuchen hervor. Eine Typhusbacillenemulsion wurde in der einen Versuchsreihe mit Alexin versetzt, in einer zweiten Versuchsreihe wurde dem Gemische außer Typhusbacillen und Alexin auch Menschenserum zugesetzt. Nach einstündigem Verweilen im Brutschrank wurde der Alexinverlust bestimmt.

Die Ergebnisse waren die folgenden:

Menge der Typhusbacillen	Die Bacillen ohne fremden Zusatz binden	Die Bacillen zusammen mit 0,1 ccm Menschenserum binden
$\frac{1}{2}$ Öse	75	60
$\frac{1}{4}$ Öse	50	55
$\frac{1}{8}$ Öse	40	45

Dieser Versuch zeigt, daß die mit Menschenserum versetzten Bacillen, wenn $\frac{1}{2}$ Öse Bacillen zum Versuch gebraucht werden, weniger Alexin binden als die reine Bacillenemulsion. Nimmt man von den Bacillen eine geringere Menge, so scheinen sie die Adsorption gar nicht zu beeinflussen. Das Menschenserum bindet nämlich hier auch ohne Zusatz der Bacillen 55 Einheiten, und zwar schon unmittelbar nach der Vermischung, wohingegen die Bacillen zur Wirkung einer gewissen Zeit bedürfen. Blieben die Bacillen vom Menschenserum unbeeinflusst, so dürfte in den geprüften Gemischen aktives Alexin überhaupt nicht nachgewiesen werden.

Kurz gefaßt: In einem Gemisch des Menschenserums mit Typhusbacillen wird die Menge des zugesetzten Alexins verringert

1. infolge der *Buchnerschen* Bindung;
2. infolge der Adsorption durch Typhusbacillen.

Verringert wird aber die Größe der Adsorption durch eine Schutzwirkung der Serumbestandteile, durch welche das Adsorptionsvermögen der Bacillen gehemmt wird.

Es ist selbstverständlich, daß diese Wirkung auf die Bacillen nicht bloß bei Normalseren, sondern auch bei Rekonvaleszentenseren vorhanden ist. Da infolgedessen, wie gesagt, ein genaueres quantitatives Verfahren unmöglich geworden ist, so will ich hier bloß die Frage stellen, ob der *Charakter* des Bindungsvorganges geändert wird, wenn anti-körperhaltiges Menschenserum zum Versuch angewendet wird.

In den folgenden Versuchen betrug die Menge der als Antigen gebrauchten Typhusbacillen ebenfalls eine $\frac{1}{4}$ Öse. Das Rekonvaleszenten-serum wurde mit verschiedenen Mengen Alexins versetzt, und zwar in der einen Reihe der Röhrchen ohne Antigen, in der anderen Reihe mit Antigen.

I. Rekonvaleszentenserum ohne Antigen:

c	x (gefunden)	x (berechnet)
		$m = 0,77, k = 1,70$
100	56	59
200	100	100
300	145	137
500	200	203

II. Dasselbe Serum mit Antigen:

		$m = 0,75, k = 2,90$
100	90	91
200	150	154
300	210	209
500	300	306

Der Unterschied der m -Werte ist demnach auch hier bloß ein geringer, bei Gegenwart des Antigens nimmt der k -Wert in erheblichem Maße zu. Die spezifische Reaktion macht sich also durch eine Zunahme der Intensität des Adsorptionsvorganges kenntlich.

Der Alexinbindungsversuch hat bekanntlich bei der Typhusdiagnose kein besonderes Interesse für sich und ich befaßte mich mit dieser Reaktion bloß darum, weil ich sie für die Analyse besser geeignet fand. Mein Bestreben war jedoch, die Gesetzmäßigkeiten der Bindungsreaktionen im allgemeinen festzustellen, und ich glaube, daß meine Folgerungen tatsächlich eine allgemeine Gültigkeit besitzen. Tatsächlich werden durch die Anwendung der Prinzipien der physikalischen Chemie bei der Ausführung der spezifischen Reaktionen neue Gesichtspunkte geltend gemacht und auf dem Gebiete, auf welchem bisher die Autorität der einzelnen Forscher die entscheidende Rolle spielte, die subjektiven Momente stark eingeschränkt. Ich denke hier in erster Reihe an die spezifischen Reaktionen, welche in der Praxis schon heute eine überaus große Wichtigkeit erlangten: an die Bindungsreaktion bei der Rotzkrankheit und an die Wassermannsche Reaktion. An dieser Stelle will ich bloß in aller Kürze zeigen, daß die Verhältnisse bei diesen Reaktionen denjenigen der Alexinbindungsreaktion mit dem Typhusserum analog sind, daß nämlich das Alexin gebunden wird:

1. durch das Antigen ohne Serumzusatz;
2. durch das Serum ohne Antigen.

Ferner wird bei gleichzeitiger Gegenwart von Serum und Antigen das antialektische Vermögen des letzteren durch die Serumbestandteile stark herabgesetzt.

Die spezifische Reaktion äußert sich selbstverständlich in einer Erhöhung des Adsorptionsvermögens.

Betrachten wir zunächst die Verhältnisse bei der Malleusreaktion. Bei dieser Reaktion wird der Rotzbacillus oder noch besser der Extrakt desselben als Antigen verwendet. Ein solcher vom Seucheninstitut der tierärztlichen Hochschule in Budapest (Direktor Prof. *Franz Hutyra*) dargestellter Extrakt wurde mir von Herrn *Arpad Marcis* in dankenswerter Weise zur Verfügung gestellt. Der Extrakt besaß ein äußerst starkes antialektisches Vermögen; in der 100–200fachen Verdünnung, in welcher derselbe bei der Ausführung der Reaktion angewendet wurde, vermochte er bei Abwesenheit des Pferdeserums von den zugesetzten 100 Alexineinheiten 50 unwirksam zu machen.

Durch Zusatz normalen Pferdeserums wird das antialektische Vermögen der Extraktverdünnung gewöhnlich verdeckt, so daß das Gemisch kaum stärker antialektisch wirkt als das Pferdeserum allein. Bei Zusatz des Serums eines rotzkranken Pferdes entsteht hingegen in der Mischung ein starker Verlust an aktivem Alexin und wenn in einer Reihe von Röhrchen das Alexin in wechselnden Mengen zugesetzt wurde, so erhält man durch die Alexinbestimmungen Werte, welche einen gesetzmäßigen Zusammenhang miteinander aufweisen, wie dies aus der folgenden Tabelle ersichtlich ist.

<i>c</i>	<i>x</i> (befunden)	<i>x</i> (berechnet) <i>m</i> = 0,82, <i>k</i> = 2,26
100	95	99
200	175	175
300	255	243
500	375	370

Bei der *Wassermannschen* Reaktion endlich kann das spezifische Antigen durch unspezifische Organextrakte ersetzt werden. „Unspezifische“ Substanzen bedingen bei dieser Reaktion eine „spezifische“ Bindung. Ein wesentliches Moment ist nun, daß sämtliche spezifische oder unspezifische Antigene oder Extrakte an und für sich das Alexin binden.

Als ich mich in einer früheren Arbeit¹⁾ mit den Extrakten befaßte, konnte ich feststellen, daß dieselben in großen Gaben nicht bloß das Alexin zerstören, sondern auch stark eiweißfällend wirken. Das gleiche wurde von *Kaup*²⁾ bestätigt. Aus vielen Beobachtungen geht ferner hervor, daß sowohl das antialektische wie das eiweißfällende Vermögen durch Zusatz von Menschenserum herabgesetzt wird. Wohl sollte man die Gebrauchsdosen der Extrakte derart wählen, daß dieselben an sich nicht hemmen; bei einer genaueren Prüfung kann man sich jedoch leicht überzeugen, daß die Extrakte auch in der Gebrauchsdosis eine nicht unbedeutende alexinfeindliche Wirkung besitzen. Wird der Gebrauchsdosis des Extraktes inaktiviertes normales Menschenserum zugesetzt, so wird das antialektische Vermögen des Extraktes verdeckt, die anti-

¹⁾ Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exper. Ther. 4, H. 6. 1910.

²⁾ Arch. f. Hyg. 87. 1918.

alektische Wirkung des Serums kommt zur Geltung und die Mischung wirkt nicht viel stärker antialektisch als das Menschenserum allein. Das Serum eines Luetikers bewirkt hingegen eine stärkere Abnahme der zugesetzten aktiven Alexinmenge und bei Zusatz wechselnder Alexinmengen erfolgt die Bindung nach den Regeln der Adsorption, wie dies die folgende Tabelle zeigt:

c	x (gefunden)	x (berechnet) $m = 0,80, k = 2,48$
100	95	99
200	174	172
300	245	238
500	375	358

Wie das hier festgestellte Prinzip für die Theorie und für die Praxis der spezifischen Bindungsreaktionen verwertet werden kann, soll weiteren Untersuchungen vorbehalten werden.

Wir können, sämtliche Ergebnisse zusammenfassend, feststellen, daß die verschiedensten Formen der Alexinbindung, die unspezifischen ebenso wie die spezifischen Bindungsreaktionen nach den Regeln der physikalischen Adsorption erfolgen. Die Adsorptionsformel ist für sie anwendbar.

Die Werte des Exponenten m bewegen sich zwischen 0,74 und 0,82. Da die quantitativen Bestimmungen bei der Alexintitrierung nicht sehr genau sind, kann man mit Recht behaupten, daß die Schwankungen keine übermäßig großen sind. Dies besagt so viel, daß der Charakter der Alexinadsorption bei den verschiedensten Reaktionen, bei den einfacheren sowohl wie bei den komplizierteren, ziemlich gleich bleibt, daß somit die Natur des Adsorbens und die Zusammensetzung des Mediums bloß die Intensität der Alexinbindung, nicht aber den Charakter desselben beeinflußt. Die spezifische Bindung bildet von dieser Regel keine Ausnahme.

Die bisher geläufige Annahme, daß die Bindung des Alexins erst nach der gegenseitigen Verankerung von Immunkörper und Antigen ermöglicht wird, trifft bloß für Blutkörperchen zu. Im allgemeinen sind aber die Antigene und andere Substanzen, welche die Rolle des Antigens übernehmen (Organextrakte), als Adsorbentien zu betrachten, deren Adsorptionsvermögen durch spezifische Stoffe oder durch spezifische Reaktionen besonders stark erhöht wird. Die spezifischen Reaktionen gehen oft mit Veränderungen der Dispersität einher, welche auch makroskopisch wahrnehmbar sind oder bei entsprechender Versuchsanordnung sichtbar gemacht werden können. Diese Dispersitätsveränderungen — Flockungen, Präzipitation, Agglutination — tragen zur Adsorption des Alexins bei. Die spezifischen Reaktionen bleiben in gewissen Beziehungen einstweilen unaufgeklärt. Die Alexinbindung selbst, welche durch spezifische oder unspezifische Reaktionen verursacht wird, kann immer als ein physikalisch-chemischer Vorgang aufgefaßt werden.

Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke der Secretine des Digestionstractus.

Von
Katsumi Haramaki (Sagaken).

(Aus der experimentell-biologischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 11. Februar 1922.)

Nach der Entdeckung des Sekretins für das Pankreas in der Duodenalschleimhaut durch *Bayliss* und *Starling* wurde die Schleimhaut des Magendarmkanals vielfach auf ihren Gehalt an Sekretinen und anderen Hormonen durchforscht.

Edkins (cit. n. 5) entdeckte in der Pylorusschleimhaut ein Sekretin für die Magendrösen, *A. Frouin* (cit. n. 1) fand, daß das zentrifugierte und filtrierte Dünndarmsekret einen Einfluß auf die Dünndarmsekretion nach seiner subcutanen Injektion hat. *Bottazzi* und *Gabrieli* (cit. n. 1) konnten durch intravenöse Injektion eines wässrigen Extraktes der Darmschleimhaut Darmsaftabsonderung erzielen. *Minorescu*¹⁾ hat durch Kochen mit der vierfachen Menge von 1/10 Normal-salzsäure aus den verschiedenen Körperorganen Sekretin hergestellt und gefunden, daß die Extrakte aus Ösophagus, Magenfundus-, Pylorus-, Dünndarm-, Rectumschleimhaut wie aus Speicheldrüsen, Leber und Nebennieren nach der subcutanen Injektion die Darmsaftsekretion befördern.

Diese Beobachtungen an der Darmdrüsentätigkeit sind schon geeignet, die Richtigkeit der Meinung vieler Autoren zu erschüttern, daß die Sekretinbildung für eine bestimmte Drüse an einen engbegrenzten Organabschnitt gebunden sei. So sprechen andere Autoren im Gegensatz zu den oben genannten geradezu von einer allgemeinen Verbreitung der Sekretinstoffe im Körper (*Papielski*).

Der Zweck meiner vorliegenden Untersuchungen war, zu kontrollieren, ob ein Sekretin für die Magendrösen nur von der Pylorusschleimhaut oder ob es auch von der Schleimhaut anderer Teile des Verdauungskanal geliefert werden könnte; ferner wollte ich, wenn letzteres zutreffend wäre, einmal durch vergleichende quantitative Untersuchungen ermitteln, welche Schleimhautpartien den stärksten Gehalt an Sekretin für den Magen besitzen und in welcher Ordnung die verschiedenen Abschnitte des Verdauungskanal in dieser Hinsicht stehen.

Während die Entdecker des ersten Sekretins in der Schleimhaut des Verdauungskanal meinten, daß dieses Duodenalsekretin erst durch die

Einwirkung der Magensäure auf ein Prosekretin in der Duodenalschleimhaut entstehe, scheint es jetzt zweifellos, daß das Sekretin im Darmlumen präformiert vorkommt und daraus nicht nur durch Säuren, sondern auch durch Salzlösungen, Seifenlösungen sowie durch Alkohol extrahiert werden kann^{2) 3)}.

Die Extrakte, mit denen ich experimentiert habe, wurden hauptsächlich nach der von *Bayliss* und *Starling* angegebenen Methode hergestellt.

Die Versuchsanordnung war folgende: Bei einem frisch getöteten Hunde wurden die Eingeweide herausgenommen, mit Leitungswasser gereinigt, und dann wurden mit dem Messer einzelne Schleimhautstücke vom Magenfundus, Duodenum, Jejunum, Dickdarm und Rectum herausgeschnitten und im Porzellanmörser gerieben. Die so erhaltenen Schleimhautbreimengen wurden gewogen. Die gewogene Substanz wurde mit der doppelten Menge einer 0,4 proz. Salzsäure versetzt, nach einigen Minuten auf 70° C erwärmt, danach mit Soda neutralisiert und filtriert. Die einzelnen Filtrate wurden allmählich durch vorsichtige Einengung auf dem Wasserbade bei gleicher Temperatur so konzentriert gemacht, daß allemal 5 ccm der Lösung 5 g frischer Schleimhautmasse entsprachen.

Vor dem Gebrauch wurde das jeweilige Extrakt noch einmal filtriert, mit einigen Tropfen Essigsäure leicht angesäuert und durch kurzes Aufkochen sterilisiert. Das so zubereitete Extrakt wurde dann subcutan einem Hunde mit *Paulowschen* Magenblindsack eingespritzt.

Bei allen nachstehend mitgeteilten Versuchen wurden also immer gleiche Mengen Extrakt, die gleichen Schleimhautmengen entsprachen, verwandt, und alle Versuche wurden an demselben *Paulowschen* Magenblindsackhunde angestellt.

Im Anschluß an die Versuche mit subcutaner Injektion habe ich auch die gleichen Extraktmengen per os gegeben, um den Einfluß der Sekretinlösungen auf die Magensekretion nach intragastraler Zufuhr zu studieren.

Versuchsprotokolle.

Subcutane Injektion von 5 ccm Secretinlösung (= 5 g Schleimhautsubstanz). Gabe per os durch die Schlundsonde von 5 ccm Secretinlösung ad 50 ccm Leitungswasser.

(Die Kubikzentimeter bedeuten die Saftmengen, die der Magenblindsack in den angeführten Zeiten abschied.)

<i>Fundusschleimhautsecretin.</i>			<i>Fundusschleimhautsecretin.</i>		
19. XII. 1921			20. XII. 1921.		
11 ^h 00'—11 ^h 30'	2,0 ccm Schleim	} 9,0 ccm	10 ^h 45'—11 ^h 15'	0,0 ccm Schleim	} 8,0 ccm
11 ^h 30'	Injektion		11 ^h 15'	Gabe per os	
12 ^h 00'	4,0 ccm		11 ^h 45'	4,0 ccm	
12 ^h 30'	1,0 ccm		12 ^h 15'	1,0 ccm	
1 ^h 00'	1,0 ccm		12 ^h 45'	2,0 ccm	
1 ^h 30'	3,0 ccm		1 ^h 15'	1,0 ccm	

Duodenum.

23. XII. 1921.

10 ^h 30'—11 ^h 00'	0,0 ccm Schleim	
11 ^h 00'	Injektion	
11 ^h 30'	1,0 ccm	} 9,1 ccm
12 ^h 00'	0,1 ccm	
12 ^h 30'	4,0 ccm	
1 ^h 00'	4,0 ccm	

Duodenum.

24. XII. 1921.

12 ^h 30'—1 ^h 00'	0,0 ccm Schleim	
1 ^h 00'	Gabe per os	
1 ^h 30'	1,0 ccm	} 3,0 ccm
2 ^h 00'	0,5 ccm	
2 ^h 30'	1,0 ccm	
3 ^h 00'	0,5 ccm	

Dünndarm.

27. XII. 1921.

11 ^h 00'—11 ^h 30'	2,0 ccm Schleim	
11 ^h 30'	Injektion	
12 ^h 00'	1,0 ccm	} 3,8 ccm
12 ^h 30'	0,8 ccm	
1 ^h 00'	1,0 ccm	
1 ^h 30'	1,0 ccm	

Dünndarm.

28. XII. 1921.

12 ^h 00'—12 ^h 30'	0,0 ccm Schleim	
12 ^h 30'	Gabe per os	
1 ^h 00'	1,5 ccm	} 2,0 ccm
1 ^h 30'	0,5 ccm	
2 ^h 00'	0,0 ccm	
2 ^h 30'	0,0 ccm	

Dünndarm.

29. XII. 1921.

10 ^h 10'—10 ^h 40'	2,0 ccm Schleim	
10 ^h 40'	Injektion	
11 ^h 10'	2,5 ccm	} 5,0 ccm
11 ^h 40'	1,0 ccm	
12 ^h 10'	0,5 ccm	
12 ^h 40'	1,0 ccm	

Dünndarm.

30. XII. 1921.

11 ^h 30'—12 ^h 00'	0,0 ccm Schleim	
12 ^h 00'	Gabe per os	
12 ^h 30'	0,0 ccm	} 1,0 ccm
1 ^h 00'	0,0 ccm	
1 ^h 30'	1,0 ccm	
2 ^h 00'	0,0 ccm	

Dickdarm.

9. I. 1922

10 ^h 30'—11 ^h 00'	0,0 ccm Schleim	
11 ^h 00'	Injektion	
11 ^h 30'	5,0 ccm	} 8,5 ccm
12 ^h 00'	1,0 ccm	
12 ^h 30'	2,5 ccm	
1 ^h 00'	0,5 ccm	

Dickdarm.

10. I. 1922.

10 ^h 30'—11 ^h 00'	00,0 ccm Schleim	
11 ^h 00'	Gabe per os	
11 ^h 30'	2,0 ccm	} 7,1 ccm
12 ^h 00'	2,0 ccm	
12 ^h 30'	2,0 ccm	
1 ^h 00'	1,0 ccm	

Dickdarm.

11. I. 1922.

10 ^h 45'—11 ^h 15'	0,0 ccm Schleim	
11 ^h 15'	Injektion	
11 ^h 45'	4,0 ccm	} 9,0 ccm
12 ^h 15'	1,0 ccm	
12 ^h 45'	3,0 ccm	
1 ^h 15'	1,0 ccm	

Dickdarm.

12. XII. 1922.

9 ^h 30'—10 ^h 00'	0,5 ccm Schleim	
10 ^h 00'	Gabe per os	
10 ^h 30'	1,0 ccm	} 3,5 ccm
11 ^h 00'	0,5 ccm	
11 ^h 30'	1,0 ccm	
12 ^h 00'	1,0 ccm	

Rectum.

13. I. 1922

11 ^h 10'—11 ^h 45'	2,0 ccm Schleim	
11 ^h 40'	Injektion	
12 ^h 10'	4,0 ccm	} 9,0 ccm
12 ^h 40'	2,0 ccm	
1 ^h 10'	2,0 ccm	
1 ^h 40'	1,0 ccm	

Rectum.

14. I. 1922.

10 ^h 00'—10 ^h 30'	3,0 ccm Schleim	
10 ^h 30'	Gabe per os	
11 ^h 00'	2,0 ccm	} 6,5 ccm
11 ^h 30'	1,5 ccm	
12 ^h 00'	1,5 ccm	
12 ^h 30'	1,5 ccm	

Aus diesen Versuchen geht hervor, daß die Schleimhaut aller untersuchten Abschnitte des Magendarmtrakts Sekretin für die Magendrüsen enthält.

Unter diesen Sekretinlösungen wirkten nach der subcutanen Injektion die aus Fundusschleimhaut, Duodenalschleimhaut und Rectumschleimhaut hergestellten Sekretinlösungen gleichstark, die aus der Dickdarmschleimhaut hergestellte Sekretinlösung blieb in ihrer Wirksamkeit kaum wesentlich dahinter zurück, und nur die aus dem Jejunum hergestellte Sekretinlösung war etwas schwächer.

Die Versuche mit der Gabe der Sekretinlösungen per os zeigten, daß auch hier, wenn auch in geringere Masse, eine Sekretionswirkung zur Anschauung kommt.

Wenn auch die Reihenfolge in der Wirkungsintensität hier nicht mit derjenigen ganz genau übereinstimmt, die die Subcutanversuche zeigen, so haben die per os-Versuche doch ergeben, daß die aus der Jejunalschleimhaut gewonnene Sekretinlösung genau wie bei der anderen Versuchsreihe am schwächsten wirkt.

Literatur.

¹⁾ *Th. Minorescu*, Internat. Beiträge zur Pathologie u. Therapie d. Ernährungsstörungen **1**, Hft. 2, Jg. 1910. — ²⁾ *Kemal Djenab*, Berl. klin. Wochenschr. 1917, Nr. 26. — ³⁾ *Hans H. Meyer* und *R. Gottlieb*, Über die experimentelle Pharmakologie als Grundlage der Arzneibehandlung. 1921. — ⁴⁾ *E. Abderhalden*, Biochemisches Handlexikon **5**. 1911. — ⁵⁾ *Eisenhardt*, Intern. Beiträge d. Pathologie u. Therapie der Ernährungsstörungen **1**, Hft. 3. — ⁶⁾ *Bayliss* und *Starling*, Journ. of physiol. **28**, 325. 1902. — ⁷⁾ *Edkins*, Journ. of physiol. **34**, 133. 1906. — ⁸⁾ *Popielski*, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **128**. 1909.

Vergleichende Versuche über die Einwirkung der Selen-, Schwefel- und Tellursalze auf die Pflanzen.

(Nebst Bemerkungen zu der Frage, ob die allgemeine Ansicht von der Absorption der anorganischen Stoffe durch das Wurzelsystem zu ändern ist.)

Von

Božo Turina.

(Aus dem Pflanzenpathologischen Institut, Krizevei.)

(Eingegangen am 17. November 1921.)

Mit 8 Abbildungen im Text.

Zu meinen Versuchen verwendete ich die im Titel genannten Elemente der Schwefelgruppe, um zu erforschen, was für einen Einfluß diese auf das Gedeihen der Pflanzen ausüben, an welcher Stelle sie ihren Eingang in den Pflanzenorganismus finden und wo und wie ihre Einwirkung zutage tritt.

A. Selen.

Selen, welches mit Schwefel und Tellur verwandt ist und in verschiedenen Schwefel- und Kupferverbindungen vorkommt, wurde bereits im Jahre 1817 von Berzelius entdeckt. Im Naturhaushalt spielt er wegen seines seltenen Vorkommens eine unbedeutende Rolle.

In neuerer Zeit haben sich einige Autoren bemüht, den Beweis zu erbringen, daß Selen in der Natur überall vorkommt, und Gassman¹⁾ hatte geglaubt, ihn in Schnee- und Regenwasser sowie in verschiedenen Pflanzen- und Tierorganismen bei den Stoffwechselprodukten usw. gefunden zu haben. Diese Angaben wurden aber von Fritsch²⁾ widerlegt und das Gegenteil davon gebracht, nämlich, daß Selen in allen diesen von Gassman angeführten Objekten mindestens zurzeit überhaupt nicht nachweisbar ist. Nachdem aber dieses Element von Berzelius bei der Schwefelsäurefabrikation in Bleikammerschlamm entdeckt worden und tatsächlich in Fahluner-, Kraslitzer-, Lukawitzer-, Bodenmais und Nordhausener usw. Schwefelkiesen, die zur Schwefelsäurefabrikation verwendet werden, nachgewiesen worden ist und die Schwefelsäure zur Herstellung von einzelnen, in der Landwirtschaft sehr gebräuchlichen Düngemitteln verwendet wird, liegt auch die Annahme nahe, daß das Vorkommen des Selen in diesem Düngemittel, wenn auch in geringsten Mengen, nicht unwahrscheinlich ist.

¹⁾ Gassman, Zeitschr. f. physiol. Chem. **98**, 182 u. 255. 1917; **100**, 209. 1917; **108**, 38. 1919.

²⁾ Fritsch, ebenda **104**, 59. 1918.

Sein Vorkommen mag uns schließlich gleichgültig sein, uns diene jedoch die Tatsache, daß dieses Element in seiner deutlich ziegelroten Farbe, um so mehr als dieses von der Pflanze selbst reduziert, leicht nachweisbar ist, uns ein Mittel in die Hand legt, die Funktionen des Absorptionssystems und der Nahrungsaufnahme bei der Pflanze bequem studieren zu können.

In der vorliegenden Arbeit wird bewiesen, daß die „Wurzelhaube“ dasjenige Organ der Pflanze vorstellt, welches für die Ernährung der Pflanze große Bedeutung hat. Die Wurzelhaube, welche man auch wegen ihrer Beschaffenheit als Schwämmchen seinerzeit bezeichnete, betrachtete man in früheren Zeiten als jenes Organ, welches die vermutete Eintrittsstelle für die Nährsalze bildet.

Kny¹⁾ hat in neuerer Zeit Versuche über die Stelle der Nährstoffaufnahme durch die Wurzel angestellt, und zwar, ob dies ausschließlich die Wurzelhaare seien oder vielleicht nicht auch die jüngere Wurzelregion, welche zwischen den jüngsten Wurzelhaaren und dem Vegetationspunkte eingeschaltet ist. Er bemerkte dabei, daß die neueren Lehrbücher diesen Punkt meist unberührt lassen. Der Autor zitiert die Angaben von Frank, der sich mit den Untersuchungen über die Aufnahme der Salpetersäure durch die Wurzeln beschäftigt hatte. Frank machte mit Diphenylamin-Schwefelsäure auf die in reinem Wasser sorgfältig abgespülten Wurzeln eine Reaktion, worauf die Wurzeln eine gleichmäßige tiefschwarzblaue Färbung zeigten. Eine stetige Ausnahme machte die Wurzelspitze, wo sich protoplasmareiche Zellen befinden und noch keine Wurzelhaare entwickelt haben. Er zieht daraus den Schluß, daß der Wurzelspitze nicht die Nährstoffaufnahme obliegt. In seinem Lehrbuch der Botanik sagte Frank wieder, daß die Wurzel-epidermis bei den meisten Pflanzen in ihrer wasseraufsaugenden Tätigkeit noch durch besondere Organe verstärkt wird, welche einen solchen Grad der Entwicklung erreichen, daß sie als die hauptsächlichsten nahrungsaufnehmenden Apparate zu gelten haben. Van Tieghem²⁾ ist auf Grund einer Anzahl von Versuchen zu der Erkenntnis gelangt, daß die Absorption der Wurzeln weder durch wachsende Region noch durch ältere Wurzelteile, wo die Wurzelhaare bereits abgestorben sind, stattfindet, sondern daß sie im Abschnitt der Wurzelhaare (tout entière) lokalisiert sei. Nach den Versuchen von Kny, die auch mit Nitraten vorgenommen wurden, da letztere durch Diphenylamin-Schwefelsäure leicht nachzuweisen sind, hat der Autor noch Experimente über die Aufnahme der Anilinfarbstoffe angestellt. Letzteres Verfahren bietet den Vorteil, daß die Anwesenheit der Anilinfarbstoffe im Plasma leicht bemerkbar ist und es keiner weiteren Reaktion bedarf. Er studierte das Eindringen von Nitraten an einer noch haarfreien Stelle dicht hinter der Wurzelhaube, und zwar zwischen der Wurzelhaube und der Region, wo die jüngsten Wurzelhaare anfangen. Die Versuche wurden mit *Zea mays*, *Vicia faba* und *Hydrocharis morsus ranae* angestellt und die Ergebnisse wurden in einzelne Sätze zusammengefaßt wie folgt:

a) Die *Zea mays* und *Pisum sativum* ließen die Nitratreaktion einige Millimeter scheidewärts über die Region der jüngsten Wurzelhaare hinaus erkennen.

¹⁾ Kny, Ber. d. bot. Ges. 16. 1898.

²⁾ Van Tieghem, Traité de botanique 1ère éd. (1884), S. 250 u. 2e éd. (1891), S. 220; Élément de botanique, 3me éd. (1898), S. 122.

b) Bei *Hydrocharis morsus ranae*, wo die Länge des haarfreien Teiles erheblich länger als bei den vorstehend genannten Pflanzen ist, wurde an vier Wurzeln in diesem Teile die Anwesenheit von Nitrat mit Sicherheit erkannt.

Wässrige Lösung von Methylviolett (in Konzentration 3 : 100 000) färbte die jungen Teile der Wurzeln im allgemeinen um so rascher, je näher sie der Grenze der Wurzelhaube lagen. Bei allen drei untersuchten Arten wurde mehrfach festgestellt, daß in derselben Zeit, wo in den mit Wurzelhaaren besetzten Teilen sich erst die Epidermis gefärbt hatte, in den jüngeren Teilen außerhalb der Haube die Farbe mehr oder weniger tief bis in die Rinde eingedrungen war. Auffällig ist aber die Tatsache, daß bei den untersuchten Wurzeln von *Hydrocharis morsus ranae* die Nitratreaktion mit Diphenylamin-Schwefelsäure nicht wie bei *Zea mays* im Innern der Rindenzone zuerst deutlich wurde, sondern vorwiegend oder ausschließlich außerhalb des Wurzelgewebes zustande kam, wenn dessen Zerstörung durch die Schwefelsäure schon ziemlich weit vorgeschritten war. Hiernach scheint es dem Autor, daß die Reaktion innerhalb der Rindenzone durch einen (vielleicht in die Membran eingelagerten) Stoff verhindert wird und erst eintritt, wenn der Zellsaft aus dem zusammensinkenden Gewebe ausfließt. Daß z. B. die Verholzung der Membranen die Reaktion behindert, ist ja bekannt.

Was die neueste Literatur auf diesem Gebiete anbelangt, so herrschen mehr oder weniger ganz übereinstimmende Ansichten darüber. *Haberlandt*¹⁾ sagt in seiner Anmerkung über die von *Kny* angeführten Tatsachen, daß, wenn auch die Absorptionszone einige Millimeter scheitelwärts über die jüngsten Wurzelhaare sich erstrecken sollte, noch kein Grund vorliegt, das von ihm bereits im Text Gesagte über die Ausdehnung des Absorptionssystems zu ändern. *Haberlandt* sagt, seine Versuche seien eine Illustration des allgemein gültigen Satzes: „Die Funktion einer bestimmten Gewebsart setzt ja nicht plötzlich ein, sobald das betreffende Gewebe fertiggestellt ist. Sie beginnt schon zur Zeit der Entwicklung des Gewebes und steigert sich allmählich bis zu seiner vollständigen Ausbildung.“ Was die Wurzelhaare anbelangt, sagte Autor, indem er zu dem mit Wurzelhaaren versehenen Absorptionsgewebe übergeht, folgendes: „Das Hauptinteresse konzentriert sich hier auf die erwähnten Haarbildungen, welche fast die alleinigen Träger der Funktion des ganzen Gewebes sind.“

Die ganze wissenschaftliche pflanzenphysiologische Literatur^{2,3,4)} ist in der Annahme einig, daß das Absorptionsgewebe uns ausschließlich die Wurzelhaare und die jungen Epidermiszellen zwischen den jüngsten Wurzelhaaren und der Wurzelhaube an den Wurzelspitzen vorstellen. Der Wurzelhaube kommt nach allgemeiner Ansicht sodann die Aufgabe zu, als Schutz- und Bohrorgan, auch Sitz für verschiedene Richtungsreize, wie Schwerkraft, Feuchtigkeit usw., zu dienen. Inwieweit alle diese Anschauungen der Wirklichkeit entsprechen, mag dahingestellt bleiben, die vorliegende Arbeit jedoch wird genug Tatsachen bringen, welche die Aufnahme der Nährsalze durch die Wurzeln, so auch die Aufgabe der Wurzelhaube, besonders beleuchten und zu einer Meinungsänderung in der Auffassung genannter Vorgänge führen dürften.

1) *Haberlandt*, Die physiologische Pflanzenanatomie. 1909.

2) *Němec*, Fysiologie Rostlin. Prag 1921.

3) *Jost*, Pflanzenphysiologie. 1908.

4) *Czapek*, Biochemie der Pflanzen. 1, 2, 3. 1920.

Zur Beobachtung der Aufnahme der Salze durch das Absorptionssystem der Pflanze eignen sich besonders diejenigen Salze, welche durch die Pflanze selbst in ihrem Organismus reduziert werden.

Bei allen durchgeführten Versuchen wurde die von Prof. Némec empfohlene Fixage der Pikro-Essig-Schwefelsäure benützt und danach durch die Alkoholreihe von 60—70% usw. fixiert.

Das in erster Versuchsreihe verwendete Natriumselenit enthielt nach der chemischen Analyse, welche im Laboratorium des Prof. Stoklasa vorgenommen wurde, 44,5% Se. Demnach wurden alle in dieser Arbeit vorgenommenen Salze analysiert und auf zuvor genannten Prozentsatz genau berechnet.

Zur Zeit der Vornahme meiner Versuche stand mir die Lösung von 0,08 g Natriumselenit auf 100 ccm dest. Wasser mit 0,0356 g Se-Gehalt zur Verfügung, was für die Keimungsversuche entsprechend verdünnt wurde.

I. Die Einwirkung des SeO_3^{--} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

a) Einwirkung auf die Keimung.

Alle in dieser Abhandlung in Frage kommenden Versuche wurden in zwei Abschnitte geteilt und zwar

- a) Einwirkung auf die Keimung und
- b) Einwirkung auf die erwachsene Pflanze.

Wegen Raummangel erscheinen die Ergebnisse der Keimung sowie die zugehörigen Tabellen hier nicht.

Bevor ich meine Versuche eingehend schildern werde, will ich noch einige Befunde auf dem Gebiete der Pflanzenphysiologie vorausgehen lassen. Hausteen¹⁾ der zahlreiche Versuche in dieser Richtung durchgeführt hat — wo man auch die bezügliche Literatur findet —, kam in seinen Schlußfolgerungen zu der Tatsache: „4. Dies trifft, wie gesagt, zuerst die Streckungszonen, mit deren Auflösung, Abknicken und Tod der Vegetationspunkte folgen. Die Plasmakörper geben jedenfalls bis zu diesem Zeitpunkte keine inneren Strukturänderungen zuerkennen, und selbst bei den in der Streckungszone bloßgelegten Zellkörpern zeigen die plasmatischen Hautschichten eine Zeitlang, wenn innen nicht der innere Druck zu groß wird, ihre normalen physikalischen und vitalen Eigenschaften.“ Derselbe Autor sagt auf S. 332: „Kommen im Kulturmedium nur die Ionen des Mg-, Na- oder Kaliumsalzes in gewissen Konzentrationen vor, so verursachen die Kationen diese Salze, daß die Wurzeln überall unter denselben Symptomen erkranken und absterben, während die oberirdischen Teile lange am Leben bleiben können.“ Der Autor sagt weiter wörtlich: „Daß die Erkrankungen einer Pflanze in einem kalkfreien Medium nicht auf Innen-, sondern auf Oberflächenwirkungen beruhen, daß also der Kalk — wie Boehm zuerst annahm — eine Bedingung für die normale Ausbildung und die erforderliche Erhaltung der Zellwände und der Zellverbände ist. Hierauf müssen seine starken antagonischen Eigenschaften bei kalkbedürftigen Pflanzen beruhen.“ Nachdem aber die Wurzeln in den Mg- und K-Lösungen von außen gegen innen in gewöhnlicher Weise zerstört werden, zeigt jedenfalls nicht auf Innen-, sondern Oberflächenwirkungen hin.

¹⁾ Hausteen, Jahrb. f. wiss. Botan. 41. 1910.

Hausteen und Cranner¹⁾ stellten den Satz für die Ca-Ionen wie folgt auf: „Sie erschweren die Wasserzufuhr durch die Wurzeln, befördern aber gleichzeitig die Transpiration und damit den Wasserverbrauch pro Gramm Pflanzensubstanz relativ stark.“

Kaliumionen verhalten sich dagegen ganz umgekehrt: „Sie befördern die Wasserzufuhr durch die Wurzeln, setzen aber die Transpirationsgröße relativ stark herunter und sind demnach überaus günstig für die Wasserversorgung.“

Versuch 4 ergab die Wasseraufnahme durch die Wurzeln in den Kalklösungen — aber auch den totalen Wasserverbrauch — stärker als in den isosmotischen Kalilösungen.

Es wird wohl zu erwägen sein, inwiefern diese Ausführungen den Tatsachen entsprechen, und worin eigentlich dieses merkwürdige Verhalten der Ca- und K-Ionen liegt.

Die Versuche, die bis heute unsere Literatur verzeichnet, beschränken sich auf das Feststellen des Antagonismus zwischen verschiedenen Salzen sowie der Konzentrationseinwirkung, die das Optimum, d. h. die entsprechende die Wachstumssteigerung oder Reizwirkung veranlassende Dosis ausübt und eine andere, die hemmend d. h. toxisch auf das Wachstum der Pflanze wirkt.

Als ich jedoch im verflossenen Winter bei der Samenkeimung die Länge der Wurzelhaare messend mikroskopische Beobachtungen anstellte, fiel mir eine rötliche Spur, die sich von der Wurzelspitze im Zentralgefäßbündelsystem eine kleine Strecke nach aufwärts hinzog, besonders auf. Ich studierte diese merkwürdige Erscheinung weiter und konnte wahrnehmen, daß diese Rötung mit Steigerung der Konzentration immer deutlicher stets an der Wurzelspitze beobachtet werden konnte.

Ich muß auch beifügen, daß das Keimwasser bei Anwendung der stärksten Konzentration nach ca. 8—10 Tagen dieselbe Färbung annahm. Um diese Rötung näher zu fixieren, wendete ich eine sehr starke Konzentration, u. z. w. 0,0534% Se an, die jedoch so stark war, daß die Roggenkörner nur die embryonale Anfangsentwicklung durchmachen konnten. Ihr fortschreitendes Wachstum jedoch infolge der starken Konzentration vollständig eingedämmt wurde.

Bei diesem Experiment sah man bereits nach 48 Stunden die Körner rötlich angehaucht, und sobald die Wurzelspitzen auch zum Vorschein kamen, wurden sie rötlich, welche Farbe in ihrer Intensität stets zunahm. Bald darauf nahm auch das Keimwasser eine ziegelrote Farbe an, wobei sich ein unangenehmer Geruch von Selenwasserstoff entwickelt hat. Um mich zu überzeugen, ob diese Erscheinung nicht ein gewisses *post mortale* zu bedeuten hat, tötete ich die 48 Stunden alten Roggenkeimlinge mit heißem Wasser ab und setzte sie in die vorerwähnte Konzentration wieder ein. Nachdem sich nun aber die be-

¹⁾ Hausteen und Cranner, *Jahrb. f. wiss. Botan.* **53**, H. 4.

schriebene Erscheinung nicht wiederholt hatte, gelangte ich somit zu der Erkenntnis, daß die Pflanze die Fähigkeit, Selen aus der ihr gebotenen Lösung zu fällen, besitzt.

Es blieb nunmehr die Frage, ob die Fähigkeit der Reduktion direkt dem lebenden Organismus zukommt, oder ob hier die enzymatischen, bei der Keimung entstehenden Prozesse in Betracht kommen.

Um dieses Problem zu lösen, nahm ich die in Sägespänen durch 24 Stunden angekeimten Roggenkörner, wusch sie gut durch und

preßte sie aus. Dieser Saft kam zur Hälfte in ungekochtem und zur Hälfte in gekochtem Zustande in eine Reihe Eprouvetten, worauf man überall eine gleiche Menge der Natriumselenitlösung zugesetzt hat. Nach Ablauf von 2 Tagen konnte man deutlich das gefällte Selen bei der mit nicht gekochtem Roggenkörnersaft gefüllten Versuchsreihe beobachten, wogegen bei der anderen Versuchsreihe keine Reduktion sichtbar wurde.

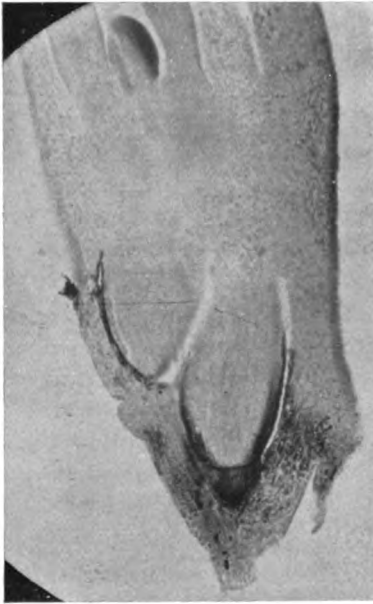


Abb. 1. Längsschnitt eines 72 Stunden alten Roggenembryos, der mit Lichtgrün behandelt wurde. Objekt A. Okul. 2. (Orig.)

Roggenembryone, die man 72 Stunden in einer 0,0534 proz. Selenitlösung ankeimen ließ, zeigten bei mikroskopischer Untersuchung pulverisiertes Selen, welches zum größten Teile in den Zellmembranen der Wurzelhaube reduziert war. Um ein genaues Bild mir zu schaffen, fixierte ich solche Embryonen und machte 8μ dicke

Schnitte. In der Abb. 1 sieht man sehr deutlich, in welcher Art und Weise der Embryo das in Wasser gelöste Selen aufgenommen hat. Eine außerordentlich starke Reduktion läßt die Wurzelhaube erkennen, wogegen die Wurzelscheide (Coleorhiza) nicht eine so intensive Fällung aufweist.

Wollen wir die Fällung des Selens uns noch besser illustrieren, stellen wir uns eine ganze Querschnittserie von der Wurzelspitze gegen die Plumula zu her. Bei den untersten Schnitten, wo die Wurzelscheide allein getroffen wurde, merken wir das reduzierte Selen ziemlich schwach, jedoch gegen die Mitte zu werden wir bereits eine oder zwei Zellen mit dunkler gefärbter Membran deutlich beobachten können. Je weiter wir nach aufwärts fortschreiten, desto deutlicher und im größeren

Maßstabe wird uns die Färbung der mittleren Zellenpartie zum Vorschein kommen, wodurch wir zu der Überzeugung gelangen, daß genannte letzte Zellengruppe, das eigentliche Calyptra, der Fällung des Selen am meisten unterworfen ist. Sobald wir sodann in die Region der Wurzelspitze gelangen, bekommen wir ein interessantes Bild zu sehen. Die Abb. 2 läßt uns sehen, daß hier Selen bei Anwendung von nicht gefärbten Präparaten an der Oberfläche der Wurzelspitze, und zwar zwischen und in den epidermalen Zellen der Wurzelhaube, stark reduziert wurde. Diese Fällung ist besonders in den Intercellularen, zwischen der Wurzelhaube und der Wurzelepidermis (wo ursprünglich Luft war)

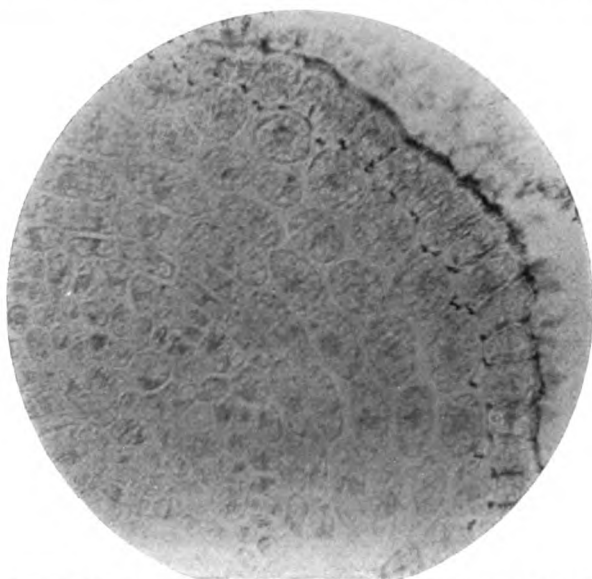


Abb. 2. Querschnitt eines 72 Stunden alten Roggenembryos, unbehandelt. Objekt DD Okul. 4 (Orig.).

als unregelmäßige rote Stückchen, die an der Abbildung als schwarze Punkte erscheinen, sehr deutlich sichtbar. Diese vorerwähnten Tatsachen lehren uns, in welcher Art und Weise der junge Embryo durch den untersten Teil der Wurzelscheide, sodann durch die Wurzelhaube das Wasser und die evtl. darin befindlichen Salze aufnimmt.

Obzwar Höber¹⁾ in seiner Arbeit über die „Permeabilität der Pflanzenzelle“ sagt, die normale Plasmahaut sei für Salze nicht durchlässig, vielmehr sie sei lange nicht so durchlässig wie die Plasmolyseversuche in den reinen Salzlösungen den Anschein erwecken, macht er doch die Bemerkung, daß unter leicht abnormen Verhältnissen, welche auch im natürlichen Leben der Pflanzen vorkommen mögen, eine merkliche Durchlässigkeit zustande kommen kann. „Vielleicht haben auch manche Pflanzenzellen, wie die Wurzelhaare in Anpas-

¹⁾ Höber, Die physikalische Chemie der Zelle und der Gewebe.

sung an besondere Funktionen stets eine höhere Permeabilität als andere“. Autor rekapituliert die Versuchsergebnisse, die Overton¹⁾ mit verschiedenen Spirogyren sowie mit Wurzelhaaren von *Hydrocharis morsus ranae* gemacht und den Satz aufgestellt hat: „daß die neutralen Alkali und Erdalkal Salze, überhaupt die anorganischen Salze, nicht eindringen, da sie in hypotonischer Lösung andauernd plasmolysieren“.

Ich sah auch an meinen Präparaten wiederholt an dem geballten Protoplasten, daß die Plasmahaut auf ihrer Oberfläche regelmäßig, das Zellinnere viel weniger reduziertes Selen aufgewiesen hat.

Um Aufschluß über das Verhalten des Protoplasten in bezug auf seine Durchlässigkeit für das Selen zu erhalten, habe ich *Cladophora* und *Spirogyra* zellen in meine Versuche einbezogen. Es wurden wieder verschiedene Konzentrationen angewendet und man konnte sehen, daß solange genannte Algen noch lebten, kein Selen in ihrem Innern zu konstatieren war, wohl aber in ihrer Umgebung. Sobald man eine derartige Konzentration angewendet hatte, daß die Algenzellen nach einiger Zeit zugrunde gingen, war auch das Selen im Innern der Algenzellen teilweise zu finden.

Um dieser merkwürdigen Erscheinung, so auch der Art und Weise des Eindringens in den Wurzelkörper des Selens, näher zu treten, setzte ich meine Versuche fort, und zwar bediente ich mich hierbei 8 Tage alter Pflanzen, die im Sande aufgewachsen waren.

b) Einwirkung des SeO_3^{--} -Ions auf die erwachsenen Pflanzen.

Die Pflanzen wurden sorgfältig aus den Keimchalen genommen und in „Neue Münchener Nährlösung“, und zwar $(\text{HN}_3)_2\text{SO}_4$ 0,163 g; KCl 0,250 g; $\text{MgSO}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$ 0,250 g; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0,250 g; $\text{FePO}_4 + 4 \text{H}_2\text{O}$ 0,250 g; $\text{FeCl}_3 + 6 \text{H}_2\text{O}$ 3 Tropfen einer 5proz. Lösung auf 1 l destilliertes Wasser gebracht.

Weiter verwendete ich verschiedene Selenkonzentrationen und konnte bei den sehr starken 0,0267 % Selen deutlich stark, wenn auch nicht regelmäßig das gefällte Selen, an der Oberfläche der Wurzeln makroskopisch konstatieren. Meistens war die Rötung an der Wurzelspitze sichtbar. Bei der mikroskopischen Beobachtung trat ein merkwürdiges Bild hervor. Bei jenen Fällen, wo man zuvor die Wurzel rot gefärbt sah, merkte man unter dem Mikroskope, daß die Wurzelrinde farblos ist, wogegen die Reduktion in der zentralen Gefäßbündelpartie, die von der Endodermis oder Schutzscheide abgegrenzt ist, eine auffallend starke war. Sehr stark war die Fällung an den Epidermiszellen der Wurzeln und der Wurzelhaare, was auch die starke ziegelrote Färbung verursacht hat.

Nachdem ich Querschnitte der oberen Wurzelteile, oberhalb der Wurzelhaube, an den wurzelhaarreichen Stellen vorgenommen hatte,

¹⁾ Overton, Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. **92**, 115. 1902.

erhielt ich noch die Bestätigung der oben erwähnten Beobachtungen, und zwar konnte ich weder in der Wurzelrinde noch in Wurzelhaaren, intra- auch nicht intercellulär das gefällte Selen mit Sicherheit feststellen. Hingegen zeigte der Zentralzylinder eine derartig starke Reduktion, daß man bei etwas stärkeren Schnitten kaum das Gewebe unterscheiden konnte. Auf diese Tatsache werde ich später bei den Versuchen mit Tellur noch näher hinweisen.

Nun trat ich zu den Einwirkungen des SeO_3^{2-} -Ions in bezug auf die innere Morphologie und Cytologie der Pflanze über, indem ich parallele Untersuchungen der Blätter und Wurzeln vornahm.

Die jungen Roggen- und Gerstenpflanzen wurden in kleine Fläschchen gesetzt, welche die vorerwähnte Nährlösung enthalten haben, und welche wöchentlich erneuert wurde. Bereits nach einer Vegetationsdauer von 2 Tagen zeigten die Pflanzen in der Konzentration von 0,01335% Se gewisse Veränderungen. An den Blattspitzen merkte man das Mesophyllgewebe sich etwas dunkelgrün färben. Dieses änderte bald darauf die Farbe in einen hellen Ton. Die Ränder der Blätter bekommen Falten, bis sie sich langsam zu rollen anfangen. Nach 3 Tagen Vegetationsdauer sah ich an den Quer- und Längsschnitten das Mesophyllgewebe stark verändert, und zwar erschien es wie gequetscht, und sogar das an das Gefäßbündel dicht anliegende Gewebe wurde stark mit einbezogen.

Ich untersuchte die Roggen- und Gerstenblätter in derselben Konzentration nach 6 Vegetationstagen und behandelte sie zu diesem Zwecke mit Tanin, Safranin Lichtgrün. Die auffallend stark veränderten Blätter zeigten an den Längs- und Querschnitten, daß der Zelleninhalt verschwunden war. Bei meiner Untersuchung fiel mir die Gestaltung des Zellinnern an der Wurzelspitze der in einer Konzentration von 0,0267% Se wachsenden Exemplare besonders auf. Es war hier deutlich zu sehen, daß die Wurzelhaube und die Wurzelrinde an der Wurzelspitze von den Zellkernen vollständig frei sei, und ein Querschnitt desselben weist eine große cytologische Veränderung im Vergleich zur Pflanze der Kontrollversuche auf.

Diese Tatsache führte mich zu einer Reihe von Versuchen, die ich vorwiegend mit Roggenpflanzen — da diese sich durch große Zellkerne an den Wurzelspitzen auszeichnen — vornahm. Ich verwendete die höchste Konzentration von 0,004272% Se, die einen sehr ungünstigen Einfluß auf die Keimung beim Roggen ausübte, um weiter ihre Wirkung auch auf die erwachsenen Pflanzen zu studieren.

Die 8 Tage alten Roggenpflanzen wurden in diese Konzentration gebracht und nach Ablauf von 4 Tagen fixiert. Der Roggen zeigte zu dieser Zeit keine merkliche Veränderung an den Blättern, und die Plasmolyse und Deplasmolyse mit n/KNO_3 verlief an den Wurzelspitzen lebhaft. Hierbei muß ich erwähnen, daß zum Studium dieser Nebenerscheinungen stets eine ganze unbeschädigte Wurzelspitze herangezogen wurde.

Das Bild 4 läßt uns deutlich sehen, welche Veränderungen unsere Versuchspflanzen an den Wurzelspitzen in morphologischer Hinsicht erlitten haben, und daß dabei die Blätter keine pathologische Beeinflussung zeigen. Wie es an der Kontrollpflanze von Roggen in der Abb. 3 deutlich sichtbar ist, haben die Zellkerne an der normalen Wurzelspitze dicht an der Calyptra $12,6\mu$ im Durchmesser, davon etwa $4,2\mu$ im Durchmesser des Nucleolus. Wenn wir die Roggenpflanze der Abb. 4 mit Natriumselenitzusatz mit der Kontrollpflanze ver-

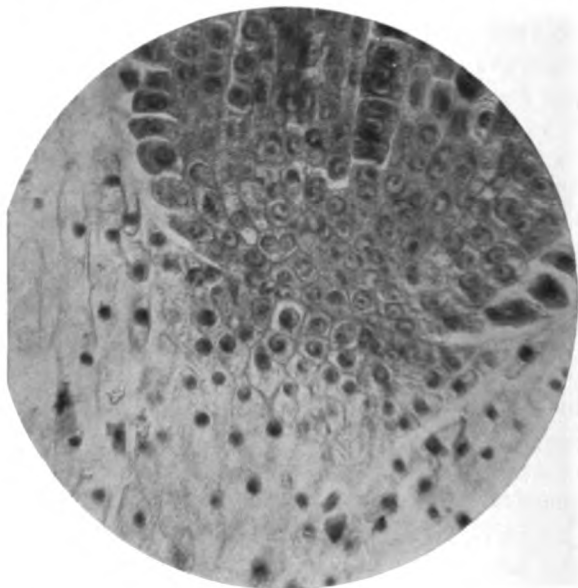


Abb. 3. Längsschnitt der Wurzelspitze von einer Roggenkontrollpflanze mit Tanin-Safranin behandelt. Objekt DD, Okul. 4. (Orig.)

gleichen, sehen wir einen merklichen physiologischen Unterschied, obwohl die beiden Pflanzen sonst unter genau gleichen Vegetationsverhältnissen gezogen wurden.

Die Zellkerne der Wurzelspitze sind im Durchschnitt bedeutend kleiner, und was besonders hervorzuheben ist, zeigt die Struktur der Zellkerne eine vollständige Veränderung. Die in der Abb. 8 dargestellten Zellkerne entbehren des eigentlichen Kernsaftes der flüssigen, alle übrigen Kernbestandteile enthaltenen Grundsubstanz. Desgleichen ist hier die achromatische, aus feinen, nicht tingierbaren Strängen bestehende Kernsubstanz nicht vorzufinden. Die chromatische, ursprünglich im Kernsaft befindliche granuliert Kernsubstanz erscheint nun mit der Substanz des Nucleolus verschmolzen und zeigt sich als eine homogene, stark lichtbrechende, sehr tinktionsfähige

strukturlose Masse. Die Zellkerne gehen bald sichtbar in einen Zersetzungsprozeß über, welcher Vorgang zuerst bei äußeren Zellen und sukzessive bei jenen nach innen zu sich befindlichen stattfindet.

Die geschilderten Erscheinungen, welche durch verschiedene Natriumselenitkonzentrationen zustande gebracht werden können, halten folgende Reihenfolge der Wirkung ein: In erster Linie zeigt die Wurzelhaube in ihrem Zellinnern eine deutliche morphologische Veränderung, welche sich in der Strukturänderung des Zellkernes kundgibt,

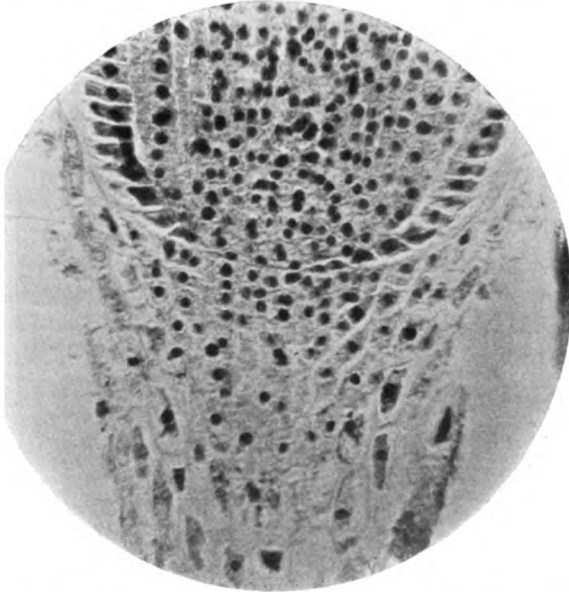


Abb. 4. Längsschnitt der Wurzelspitze einer Roggenpflanze nach 4 tägiger Einwirkung der angeführten Selenitlösung. Mit Tanin-Safranin behandelt. Objekt DD, Okul 4. (Orig.)

wonach erst die Blätter ihre Veränderungen erfahren und der ganze Organismus allmählich zugrunde geht.

Viel empfindlicher für die Einwirkung des SeO_3^{2-} -Ions als verschiedene Getreidearten haben sich *Sinapis alba* sowie *Lepidium sativum* erwiesen. Genannte Pflanzen konnten bereits in sehr niedrigen Konzentrationen nicht keimen. So beispielsweise, wenn ich die 24 Stunden im Sand angekeimten Sinapiskörner in eine Petrierschale mit einer Konzentration von 0,0534% Se auf 24 Stunden brachte, ist eine derart auffallende Quellung des Zellinhaltes bemerkbar gewesen, daß der Zellinhalt an der Wurzelspitze ganz deformiert erschien.

II. Einwirkung des SeO_4^{2-} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

a) Seine Einwirkung auf die Keimung.

Natriumselenat enthielt nach der im Laboratorium des Prof. Stoklasa durchgeführten Analyse 40,8% Se, welche Menge auf 44,5% des Selenits berechnet wurde.

Wenn wir die 24 Stunden in Sägespänen angekeimten Roggensamen nach gründlicher Waschung ausgepreßt und diesen Preßsaft in gekochtem und ungekochtem Zustande einer Reaktion durch Natriumselenat unterworfen haben, zeigte sich nach Ablauf von 3 Tagen bei beiden Versuchsreihen eine deutliche Fällung, welche bei jener des gekochten Roggenpreßsaftes noch deutlicher zum Vorschein gekommen ist.

b) Einwirkung des SeO_4^{--} -Ions auf die erwachsene Pflanze.

Die gewählten Gerstenpflanzen, welche unter gleichen Bedingungen wie die zuvor beschriebenen aufgezogen waren, setzten wir in dieselbe Konzentration von 0,01335% Se ein, um ihre weitere Entwicklung zu beobachten. Nach 2 Tagen bereits zeigten die Pflanzen eine merkliche Veränderung, indem ihre Blattspitzen eine gelbliche Farbe annahmen, was jedoch bei allen Pflanzen nicht gleichmäßig war.

Wenn wir diese Blätter nach Ablauf von 4—5 Tagen näher untersuchten, wurde uns der Zellkern in den mit Tanin, Safraninlichtgrün gefärbten Quer- und Längsschnitten der Blätter sichtbar, wogegen wir den Chloroplasten selten vorzufinden imstande waren. Bei den Präparaten der Querschnitte ist vom Anfange der Veränderung mit Sicherheit eine Unregelmäßigkeit in der Form des Mesophyllgewebes mit Ausnahme der intakt gebliebenen Gefäßbündel zu beobachten.

Die Wurzelspitzen dieser Versuchspflanzen, welche in einer Lösung von 0,0267% Se durch 6 Tage standen, zeigten eine deutliche cytologische Veränderung, die ein Querschnitt noch viel besser zum Ausdruck bringt.

Die Strukturveränderungen, welche den Zellkernen aus dieser Lösung zukommen, weichen von jenen aus der Natriumselenitlösung merklich ab. Wo bei den letztgenannten die ganze Substanz als eine homogene Masse erscheint, ist nach Einwirkung von Natriumselenat dagegen eine granuläre Struktur nebst dem Kernsaft zu sehen. Den Nucleolus sieht man hier seltener, da er meistens eine Strukturveränderung erlitten hatte.

III. Einwirkung der SeO_3^{--} - und SeO_4^{--} -Ionen auf das Gedeihen der Pflanzen im Boden.

Um einen richtigen Begriff über den Einfluß der obengenannten Salze, sowohl auch zur notwendigen Vervollständigung unserer Versuche, haben wir analoge Experimente mit denselben Pflanzenarten im Gartenboden vorgenommen.

Zu diesem Zwecke wurde eine starke Konzentration, und zwar 0,02225% Se angewendet, welche dem gewöhnlichen Leitungswasser zugesetzt wurde.

Die Vegetationstöpfe wurden mit ganz kleinen Mengen à 20—30 ccm der genannten Lösung nach Bedarf behandelt.

Wir haben zu unseren Versuchen *Hordeum vulgare*, *Sinapis alba* und *Lepidium sativum* herangezogen, und am 25. I. 1921 die Aussaat vorgenommen. Die Pflanzen der Kontrollversuche kamen bereits am 30. I. heraus, wogegen jene mit Natriumselenit erst am 1. II. auskeimten.

In den mit Natriumselenat behandelten Töpfen zeigten *Lepidium*pflänzchen eine auffallend schwache Konstitution ohne Corophyll und gingen nach einigen Tagen ein. Die Blätter von solchen Exemplaren, am 2. II. fixiert und mit Tanin, Safranin-Lichtgrün gefärbt, zeigten eine deutliche Desorganisation des Zellinhaltes.

Die mit Natriumselenit behandelten *Sinapis*- und *Lepidium*pflanzen keimten überhaupt nicht aus, und die Samen zeigten eine rote Färbung.

Eine sehr merkwürdige Erscheinung trat bereits am 4. II. bei den mit Natriumselenat behandelten Gerstenpflanzen deutlich zum Vorschein und ist dieselbe in der Abbildung vom 8. II. (Nr. 5) dargestellt. Dasselbst sieht man links die normalen, in der Mitte die mit Natriumselenat und rechts jene mit Natriumselenit behandelten Pflanzen.

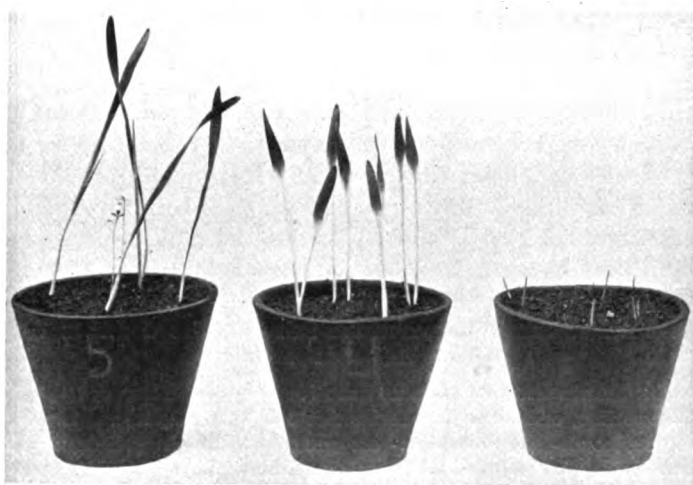


Abb. 5. Das durch Na-Selenat verursachte Panachement bei der mittleren Pflanze.

Die mittleren Pflanzen zeigen uns ein recht hübsches „Panachement“, welches sich in dem Farbenwechsel kundgibt, und zwar von unten hinauf zu betrachten merken wir, daß die Blätter bis zu ca. $\frac{2}{3}$ schneeweiß sind und von da an in eine normal grüne Farbe übergehen. Einige Exemplare dieser Blätter wurden fixiert und die Wurzelspitze auf ihre Lebenserscheinung mit $^{14}\text{N}/\text{KNO}_3$ geprüft. Plasmolyse war positiv. An den Längsschnitten, die durch eine solche weiße Blattstelle gemacht wurden, zeigte sich, daß die Chlorophyllkörner vollständig aufgelöst, im Gegensatz zu jenen der Kontrollpflanzen, wo dieselben intakt waren.

Um die Auflösungsprozesse genau zu verfolgen, wurden die Längsschnitte durch jene Stellen, wo der Farbenübergang stattgefunden hat, vorgenommen. Die nun zum Vorschein gekommenen Bilder haben uns folgende Vorstellung des Auflösungsprozesses vor Augen geführt. Die Chlorophyllkörner schwellen zuerst an, nahmen eine dunklere Farbe

an, als ob sie den grünen Farbstoff stärker aufnahmen. Darauf schmiegen sich diese Körner an die Zellwände an, indem sie ihre Form in eine längliche wurstähnliche änderten. Diese Gebilde wurden kleiner und zerflossen schließlich in eine anscheinend desorganisierte bräunliche strukturlose Masse.

Die Struktur der Zellkerne nahm eine tinktionsfähige, dem normalen Aussehen ähnliche Struktur an. Die Zellkerne selbst vergrößerten sich etwas, so daß die Nucleolen deutlicher zum Vorschein kamen. Die oben geschilderten Veränderungen lehrten mich ein Element kennen, welches das Auflösen der Chlorophyllkörner zu bewirken imstande ist.

Diese Wirkung konnte ich bei Weizen- und Roggenkulturen deutlich wahrnehmen. Zur selben Zeit hat Hafer jedoch in keiner Weise reagiert.

Obwohl bezügliche Literatur bloß sagt, daß die Panachementerscheinungen die Folgen gewisser enzymatischer Prozesse seien, wird es wohl zu erwägen sein, ob dies ein alleinstehender Fall ist, nachdem diese interessanten Veränderungen bei Anwendung des Natriumselenats im Boden in oben beschriebener Weise zutage traten.

Nach diesem Versuche trat ich der Frage näher:

IV. Welche Nachwirkung die genannten Salze auf das Gedeihen der Pflanzen im Erdboden ausüben?

Um dies beantworten zu können, habe ich dieselben Töpfe des vorigen Versuches angewendet, und zwar jene Reihe mit 0,055625 g Se und eine andere mit 0,11125 g Se, sowie Natriumselenit- als auch Natriumselenat-Salzen pro Topf, in welchen beide die Sinapis- und Lepidiumkeimlinge, infolge Einwirkung des SeO_4^{2-} -Ion vollständig eingegangen waren.

Nachdem diese Töpfe mit ihrem Inhalte im Heizraum des Gewächshauses einen Monat lang gestanden hatten, wurden sie herausgenommen und ihr Boden mit Leitungswasser behandelt. Sodann schritt ich am 12. III. zur Aussaat von Gerste-, Sinapis- und Lepidiumsaamen. Die Gerstenkeimlinge zeigten bereits am 20. III., und zwar in der Versuchsreihe mit Natriumselenat, wieder dieselben Panachementerscheinungen, wie zuvor beschrieben wurde; Sinapis und Lepidium führten anscheinend auch ein kümmerliches Dasein und sind kurz darauf eingegangen.

Jene Töpfe der Versuchsreihe, die eine Menge des Natriumselenits, der 0,055625 g Se erhalten hatten, wiesen überhaupt keine Entwicklung der Sinapis- und Lepidiumpflanzen auf, hingegen kam bei der Gerstenkultur eine interessante Erscheinung zum Vorschein. Die Keimlinge, welche 2 Tage später als bei den Kontrollversuchen herauskamen, hatten ein normales Aussehen, und erst bei der Untersuchung des Wurzelsystems am 2. IV. kam ich auf eine auffallende Veränderung. Jede der fünf Pflanzen besaß 18–23 Wurzeln, jedoch war keine davon über 2 cm lang, gegenüber der Kontrollpflanze war es eine 3–4fache Wurzelanzahl.

Die Versuchsreihe mit 0,11125 g Se in Form von Natriumselenit und Natriumselenat pro Topf kam am 28. III. zur Bestellung mit Gerste, Sojabohnen und Lepidiumsamen.

Bereits am 4. IV. war das Gerstepanachement wieder bemerkbar. Die Sojapflanzen haben bei der Einwirkung von Natriumselenit eine wurzelbrandähnliche Erscheinung aufgewiesen und sind infolgedessen umgefallen. Ihre Wurzelspitzen waren braun gefärbt und die Wurzelhaube wies starke cytologische Veränderungen auf, während ihre Zellen inhaltslos waren.

Mit beschriebenen Versuchen über die Einwirkung des Selen in Form von Natriumselenit und Natriumselenat auf die Keimung und Entwicklung der Pflanzen glaube ich genug Material gesammelt zu haben, und schreite nun zur Einwirkung des

B. Schwefels

auf die Vegetation, um weitere Daten über die morphologisch-cytologischen Erscheinungen zu sammeln.

Schwefel war ursprünglich als ein Bestandteil der Metalle bekannt. Erst Lavoisier erkannte ihn als Element. Dieses Element ist in der Natur sehr verbreitet und bildet einen Grundstoff in der lebenden Substanz der Tier- und Pflanzenwelt. Liebig¹⁾ wies nach, daß die Pflanzen ihren Schwefelgehalt durch die Wurzeln aus dem Boden aufnehmen, und erst später erkannte man durch Wasserkulturversuche, in welcher Form und aus welchen Verbindungen der Schwefel für die Ernährung der Pflanzen in Betracht kommt.

In welchen Mengen Schwefel in der organischen Welt vorkommt, wurde viel später bekannt. Man hat ihn nämlich in amorphem Zustande in den Zellen niederer Organismen, die als Sulfuraren benannt werden, gefunden. Es sind dies verschiedene Bakterien, wie Beggiatoa, welche imstande sind, bis ca. 25% in ihren Körpern aufzuspeichern, so sind auch Lepthotrix, Bacillus zoogloens, Bacterium ludwigi und andere charakteristische Bewohner der Schwefelquellen, in welchen sie als weiße, schleimige Masse schwimmen.

Dieses Element, welches für die Landwirtschaft große Bedeutung besitzt, ist noch viel zu wenig bekannt, und in der Agrikulturchemie sagt man, daß Sulfitverbindungen sich für die Ernährung der Pflanzen nicht eignen, vielmehr wirken sie „toxisch“ auf die Entwicklung dieser ein. Uns ist aber im allgemeinen durch Wasserkulturversuche bekannt geworden, daß nicht nur Schwefel, sondern alle Elemente in „gewissen“ Konzentrationen toxische Wirkungen hervorzurufen vermögen.

Von dieser Betrachtung ausgehend, erlaubte ich mir bereits in der Einleitung darauf hinzuweisen, daß es von Vorteil wäre, die Ausdrücke „Giftwirkung“ und „Ernährungsstörung“ nicht so allgemein anzuwenden, vielmehr irgendeine reelle Erklärung für die betreffende Erscheinung einzusetzen. Ich hoffe durch meine Versuche auf den richtigen Weg gekommen zu sein, der Lösung der aufgeworfenen Frage näherzurücken. Meine Versuche über die Einwirkung des Natriumsulfits auf das Gedeihen der Pflanzen führten mich zu positiven Resultaten.

Es hat mich wohl die Tatsache überrascht, daß die Pflanzen während meiner Versuche die Zellkerne an den Wurzeln-

¹⁾ Liebig, Die Chemie in ihrer Anwendung usw. 7. Aufl., I, 87. 1862.

spitzen verloren, währenddem die Pflanzen noch ganz grün waren und die Wurzelspitze selbst noch weitere Lebenserscheinungen gezeigt hat.

Diese Tatsache dürfte wohl die Aufgabe und Bedeutung des Zellkernes für den Organismus der Pflanze künftighin näher beleuchten und ein allgemeines Interesse in der wissenschaftlichen pflanzenphysiologischen Literatur erwecken.

I. Einwirkung des SO_3^{--} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

b) Einwirkung des SO_3^{--} -Ions auf die erwachsene Pflanze.

Zu diesem Zwecke wurde die Analyse von $\text{Na}_2\text{SO}_3 + 7 \text{H}_2\text{O}$ gemacht, und die gefundenen 11,7% Se auf 44,5% des Natriumselenits berechnet.

Ich nahm 8 Tage alte Roggen- und Gerstenpflanzen und setzte sie in verschieden starke Konzentrationen, um dann den 4., 5., 6. und 7. Tag meine Untersuchungen vorzunehmen. Ich fand speziell bei den Konzentrationen 0,0356—0,0534—0,06675% Se die merkwürdige Erscheinung vor, daß trotzdem die Plasmolyse und Deplasmolyse an den Wurzelspitzen im Laufe des Versuches positiv war, ich keine Zellkerne bei allen untersuchten Objekten sehen konnte, hingegen entdeckte ich hier kleine Zellkernchen, die ich mir als „Nucleolini“ bezeichnete.

Bevor ich die Nucleolini eingehender besprechen werde, will ich noch einige pflanzenphysiologische Befunde vorangehen lassen. Hertwig¹⁾ fand außer Zellkern bei verschiedenen Zellformen liegende Massen, die sich mit Chromatin färben und als „Chromidien“ bezeichnet worden sind. Dieser außerhalb des Kerns liegende Chromidialapparat kann sehr verschiedene Formen annehmen. Er kann in Form eines strangförmigen Gerüsts als Chromidialnetz das Protoplasma durchziehen, er kann als dichte Masse den Kern außen umlagern, er kann schließlich in der Gestalt einzelner isolierter Fäden und Bröckchen im Protoplasma zerstreut liegen.

Korschelt²⁾ nahm Untersuchungen über die Kernstrukturen bei Spinnwebdrüsenzellen der Raupen vor und fand, daß die Zellkerne der Raupen von gleichmäßig feinen Körnchen (Mikrosomen) erfüllt sind, zwischen denen die chromatische Substanz in Form von dickeren Brocken (Makrosomen) eingelagert erscheint.

Tangl³⁾ war der erste, der eine Ausstoßung der Nucleolen in das Cytoplasma im Laufe der Karyokinese bei der Bildung des Pollens von *Hemerocallis fulva* beobachtete. Diese Körperchen stimmen mit den echten Nucleolen überein, da sie bei der Karyokinese im Cytoplasma auftreten, und werden als Zerfallsprodukte der Nucleolen betrachtet. Es wurden Beobachtungen gemacht, die es nicht unwahrscheinlich erscheinen lassen, daß auch eine Rückwanderung der Nucleolen aus dem Cytoplasma in die Tochterkerne stattfindet.

Zimmermann⁴⁾ konnte in den Pollenmutterzellen von *Lilium martagon* den Austritt der Nucleolen während der Kernteilung nachweisen. Dieselben zer-

¹⁾ Hertwig, Sitzungsber. d. Ges. f. Morphol. u. Physiol., München 1907.

²⁾ Korschelt, Arch. f. mikroskop. Anat. 47. 1896.

³⁾ Tangl, Denkschr. d. mathem. naturwiss. kgl. Akademie d. Wiss. zu Wien 45, 65, Abt. 2. 1882.

⁴⁾ Zimmermann, Jahrb. 2, 1.

fallen hier in sehr viele kleine Kügelchen. Gleiche Beobachtungen machte Autor bei *Hyacinthus candicans* und *Fritillaria imperialis*, und die jungen Sporangien von *Equisetum* und *Psilotum* zeigten ein gleichartiges Verhalten.

Belajeff¹⁾ beobachtete in den Pollen Mutterzellen von *Larix europaea*, daß nach der Auflösung der Kernmembranen der Nucleolus immer kleiner wird und schließlich verschwindet, daß aber dann im Cytoplasma eine Anzahl von Kernchen auftritt, die sich wie die Nucleolen färben und mit dem Beginn der Nucleolenbildung in den Tochterkernen wieder vollständig verschwinden. Er nimmt an, daß die im Cytoplasma beobachteten Körper erst nachträglich aus der gelösten Nucleolarsubstanz wieder niedergeschlagen werden.

Strassburger²⁾ kam ebenso auf Grund seiner Untersuchungen der Pollenmutterzellen der Liliaceen und von *Larix* zu der Überzeugung, daß dieser Körper sich erst nachträglich aus gelöster Nucleolarsubstanz verdichtete. Er bestritt die Ableitung dieser Körper von den Nucleolen und bezeichnete sie zunächst als Sekretkörperchen, später als Paranucleolen.

Dagegen hat Zimmermann³⁾ nachgewiesen, daß es sich hier unzweifelhaft um eine Metamorphose des Nucleolus handelt, und daß dieser vor der ersten Teilung im Embryosack ein völlig gleichartiges Verhalten sei, wie es für *Lilium mortagon* und *Fritillaria imperialis* bewiesen wurde.

Aus den vorzitierten beobachteten Tatsachen geht klar hervor, daß sich meine Beobachtungen nicht mit den angeführten decken, denn die Beobachtungen der angeführten Forscher wurden mehr oder weniger im Laufe der karyokinetischen Prozesse gemacht, und eine derartige Auflösung der Zellkerne unter gleichzeitiger Entstehung von Nucleolini ist in der ganzen Literatur der Pflanzenphysiologie nirgends zu finden.

Entstehung der Nucleolini.

Die 8 Tage alten Pflänzchen wurden aus dem Keimsandbeet herausgenommen und in die Konzentrationen der Natriumsulfatlösung der 0,0356 — 0,0534 — 0,06675% S enthalten hatte gesetzt. Da, wie zuvor geschildert wurde, am 4. Tag keine Zellkerne mehr sichtbar waren, war hiermit diese Reihe der Roggen- und Gerstenpflanzen nach 24, 48, 72 Stunden fixiert. Es wurde bei jedem Exemplar vom 1. Tage angefangen fortschreitend bis zum 7. Tag Plasmolyse und Deplasmolyse an den Wurzelspitzen vorgenommen. Die Plasmolyse und Deplasmolyseerscheinungen waren jedesmal positiv.

Ich kann nicht unerwähnt lassen, daß einige Roggenpflanzen, die bis zum 8. Vegetationstag in den genannten niedrigen Konzentrationen

¹⁾ Belajeff, Flora. Ergbd., 430. 1894.

²⁾ Strassburger, Pringsheim Jahrb. 28, 151. 1895. — Strassburger, Arch. f. mikroskop. Anat. 21, 476.

³⁾ Zimmermann, Jahrb. 2, 1.

gestanden hatten, vollständig grün gewesen sind, dagegen die Gerste sich bedeutend empfindlicher zeigte. Bei sämtlichen Pflänzchen waren die Zellen an den Wurzelspitzen durch diese Zeit lebendig, allerdings ohne Zellkerne.

Um dieser Erscheinung näher zu treten, untersuchte ich die Präparate, die nach 24, 48, 72 Stunden fixiert waren. Ich konnte bei den 24 Stunden mit Sulfit behandelten Pflanzen deutlich wahrnehmen, daß die Zellkerne in ihrer Struktur stark verändert waren und daß bereits „Nucleolini“ an den tangentialen, durch die Wurzelhaube

geführten Schnitten (siehe Abb. 6) zu finden waren. Die Präparate waren mit Tanin-Safranin behandelt.

Wenn man einen medianen Längsschnitt durch die Wurzeln genau betrachtet, findet man im Pleromteil u. a. etwa 300μ vom Vegetationspunkt aufwärts Zellkerne, die mehr oder weniger eine normale Gestalt zeigen. Dieses Aussehen verändert sich jedoch, je weiter wir gegen den

Wurzelvegetationspunkt oder die Wurzelrinde fortschreiten, indem diese angeschwollen erscheinen und der Nucleolus kleiner wird. Die chromatische Substanz nimmt an Größe stark zu,

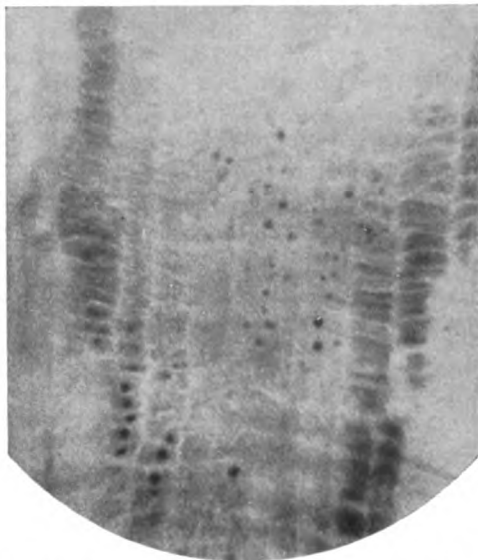


Abb. 6. Tangentialschnitt durch die Wurzelhaube einer durch 24 Stunden mit Sulfit behandelten Roggenpflanze läßt Nucleolini deutlich sehen. Mit Tanin-Safranin behandelt. Hom. Imm. Okul. 2 (Orig.).

Nucleolus verschwindet vollständig und der Zellkern erscheint in seinem Innern feinkörnig und läßt den ursprünglichen Kernsaft in diesem Körnchen erkennen.

Vielfache Untersuchungen ließen mich die Tatsache erkennen, daß die Bildung der Nucleolini im Zellkerne der Wurzelspitzen außen beginnt und nach innen fortschreitet.

Bei den 72 und besonders bei 96 Stunden in der Nährlösung mit Natriumsulfit, welche 0,0356% S enthält, gestandenen Versuchspflanzen weisen Nucleolini, wie sie die Abb. 7 deutlich erkennen läßt, fast überall in ihrem Wurzelinnern auf.

Die Nucleolini stellen kleine, beinahe regelmäßig runde Körperchen verschiedenster Größen dar, welche im Durchmesser 4μ haben und

schließlich als ganz kleine, auch unter stärkster Vergrößerung, dem Auge kaum sichtbare Pünktchen erscheinen.

Der Struktur nach zeigt sich das Nucleolin als ein Zellkernchen mit einer homogenen chromatischen Umhüllung, die den farblosen ursprünglichen Kernsaft sowie einem „Nucleoill“ in der Mitte einschließt.

Da diese Zellkernchen weder mit dem Hertwigs Chromidialapparat noch mit Tangels Nucleolen identisch sind, vielmehr sehr große Analogie mit dem Zellkern haben, glaube ich die Bezeichnungen „Nucleolin“ und „Nucleoill“ richtig getroffen zu haben.

Nachdem wir das Wesen der Nucleolini kennengelernt haben, stehen wir vor einem neuen Abschnitt der Pflanzenphysiologie. Wenn man den Zellkern und das Protoplasma als gleichwertige Zellbestandteile hinstellt, bleibt nun die Frage offen, was mit dem Fortbestand der Zelle sein soll, wenn wir durch Einwirkung der Salze den Zellkern verschwinden lassen und an dessen Stelle die Nucleolini treten? Jedenfalls sind wir durch die Entdeckung der Nucleolini dem Wesen sowie der Funktion des wichtigsten Zellbestandteiles, dem Zellkern, nähergetreten.

Was die Entstehung der Nucleolini anbelangt, können wir erst einen klaren Begriff bekommen, wenn wir die chemische Zusammensetzung und Eigenschaften derjenigen Salze kennengelernt haben, die analoge Erscheinungen hervorzurufen imstande sind.

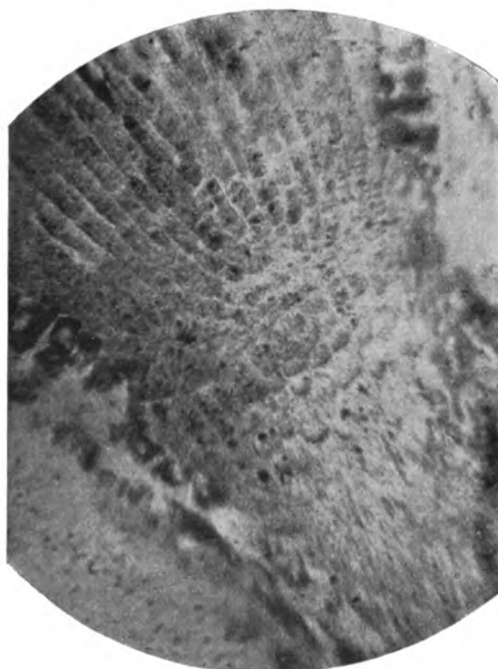


Abb. 7. Längsschnitt durch die Wurzelspitze einer durch 96 Stunden mit Natriumsulfit behandelten Roggenpflanze läßt die Nucleolini als Pünktchen verschiedener Größe überall sehen. Mit Tanin-Safranin behandelt. Hom. Imm. Okul. 2 (Orig.).

II. Einwirkung des SO_4^{2-} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

b) Einwirkung des SO_4^{2-} -Ions auf die erwachsenen Pflanzen.

Es wurde bei unseren Versuchen der gleiche Vorgang wie vor beschrieben eingehalten. Wir haben wieder $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$ analysiert und die gefundenen 9,91% S auf 44,5% Selenit berechnet.

Bei meinen Versuchen habe ich die bereits bekannte Methodik angewendet, um zu sehen, wie sich die entwickelten Pflanzen zu den Konzentrationen von 0,0356–0,0534–0,06675% S in Form von Natriumsulfat verhalten. Ich konnte weder in der ersten Zeit, so auch bis zu 7 Wochen keinen Einfluß des Schwefels auf die Wurzelspitzen wahrnehmen, vielmehr sind die Pflanzen in den erwähnten Lösungen sehr gut gewachsen und haben keine Krankheitssymptome gezeigt, aus welchem Grunde ich nach Ablauf der 7. Woche meine Versuche abbrach.

C. Tellur.

Tellur, bereits im Jahre 1783 von Müller aus Reichenstein entdeckt, ist ein Element, welches man nur in sehr kleinen Mengen in der Natur vorfindet. Ich wählte dieses Element zur Vervollständigung meiner Versuche, um zu sehen, wie dieses bekannte dritte Element der Schwefelgruppe sich gegenüber der Pflanze verhält.

Wie Selen wird auch Tellur von der Pflanze selbst aus der Lösung gefällt, wodurch es ein geeignetes Objekt für die pflanzenphysiologischen Beobachtungen bildet.

I. Einwirkung des TeO_3^{2-} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

Das oben genannte Salz war ohne Wassergehalt und die Tellurmenge aus der Na_2TeO_3 auf 44,5% Selenit berechnet.

Beim letztgeschilderten Versuche machte ich die merkwürdige Wahrnehmung, daß die Wurzelspitzen bei Anwendung der höchsten Konzentrationen eine dunklere Farbe angenommen hatten.

Diese Erscheinung trat besonders bei den Konzentrationen 0,0356 und 0,1068% Te stark zum Vorschein, wo Roggensamen sich zur Keimung befanden. Die Roggenkeimlinge hatten ihre Würzelchen bereits nach 48 Stunden bei der erstgenannten Konzentration tief braun und bei der zweitgenannten kohlschwarz gefärbt.

Im Vergleich zu unseren Versuchen mit Selen befand sich hier verhältnismäßig sehr wenig Tellur im Keimwasser gefällt. Ein solcher Roggenembryo fixiert, zeigte an den Längsschnitten Tellur kaum intercellular, wogegen aber die Zellkerne, wie Abb. S eines ungefärbten Präparates deutlich sehen läßt, in dunkler bis mattschwarzer Farbe erscheinen.

Wenn ich eine sehr starke Vergrößerung angewendet habe, wurde mir eine sehr starke Tellurfällung im Zellkern sichtbar, indem ich viele schwarze Fleckchen im Kernsaft beobachten konnte. Von diesem letztgenannten war viel weniger an der Plasmahaut und im Protoplasma selbst zu sehen. Die Kernkörperchen sind an ihrem Rande dunkler gefärbt, wobei ihr Inneres anscheinend tellurfrei bleibt.

Um die Fällung des Tellurs sicher festzustellen, untersuchte ich den Querschnitt eines Roggenembryos und fand dieses Element vorwiegend im Zellkern, an der Plasmahaut und in den Plasmaverbindungen, die zwischen dem Zellkern und dem Primordialschlauch verlaufen, dagegen nicht in den Vakuolen.

Um festzustellen, an welcher Stelle Tellur eigentlich seinen Eingang in die Pflanze findet, wiederholte ich meine Versuche mit Roggenembryonen, und zwar bei den 2, 4, 6 und 8 Tage alten Keimlingen.

Wenn ich die 4 Tage lang angekeimten Roggenpflänzchen in eine Konzentration der Natriumtelluridlösung, die 0,0534% Te enthalten hat, gestellt habe, konnte ich bereits nach 10 Stunden beobachten, daß sich die Wurzelspitzen braun färbten, wobei die Wurzelepidermis über der Wurzelhaube jedoch farblos blieb. Mikroskopische Beobachtungen führten mir dasselbe Bild, wie es bei der Beobachtung der Selenwirkung der Fall war, vor Augen. Ich sah deutlich jene Partie der Wurzelspitze, welche mit Wurzelhaube bedeckt ist, braun gefärbt, welche Färbung auch die Partie der Zentralgefäßbündel angenommen hatte, dagegen war die Wurzelrinde ganz farblos, mitunter nur unbedeutend dunkler angelaufen.

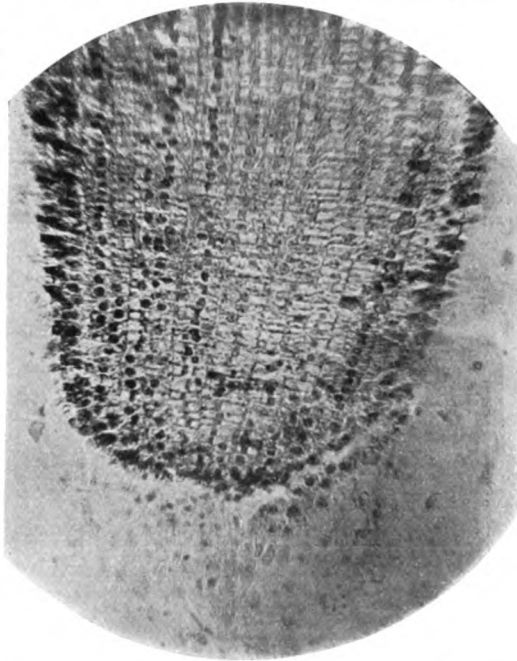


Abb. 8. Längsschnitt einer Wurzelspitze eines 48 Stunden alten Roggenembryos. Unbehandelt. Obj. DD, Okul. 2 (Orig.).

Ein recht interessantes Bildchen der Tellurfällung können wir uns schaffen, wenn wir zu einem Wassertropfen, in welchem sich eine unbeschädigte, abgeschnittene Wurzelspitze von einer 8 Tage alten und durch 24 Stunden in angeführter Konzentration wachsender Roggenpflanze unter Deckglas befindet, 1 oder 2 Tröpfchen konzentrierte SnCl_2 hinzubringen.

Es geht eine lebhafte, rasche Reaktion vor sich, und man kann deutlich die Tellurfällung als kleine Fleckchen im Zellinnern, viel weniger

aber in der Membran beobachten. Die Fleckchen erscheinen als 10–12 μ große verschiedenartig gestaltete Gebilde. Diese Erscheinungen unterstützen bedeutend meine Annahme, daß die Tellursalze durch die Wurzelhaube in die Wurzelspitze und von da durch das Zentralgefäßbündelsystem geleitet, in den oberirdischen Pflanzenteilen ihren Eingang finden.

Abb. 8 zeigt uns die Tellurfällung an den einschichtigen Stellen der Wurzelhaube stark, was aber gegen Innen zu und aufwärts allmählich abnimmt.

Um hier die Anwesenheit der Fermente nachzuweisen, ließ ich Roggensamen durch 24 Stunden ankeimen und preßte dieselben nach Ausspülung aus. Der gewonnene Preßsaft wurde filtriert, die Hälfte davon in gekochtem, die andere in ungekochtem Zustande in Eproutetten gegossen. Den beiden Versuchsreihen wurde die gleiche Menge Natriumtelluritlösung zugesetzt, und bereits nach 2 Tagen konnte man eine deutliche Tellurfällung bei beiden Versuchsreihen beobachten, welche jedoch bei jener des gekochten Preßsaftes etwas schwächer war. Das führte mich zur Erkenntnis, daß die Pflanzen über Fermente verfügen, die Tellur aus der Lösung zu fällen imstande sind.

b) Die Einwirkung des TeO_3^- -Ions auf die erwachsenen Pflanzen.

Um der Frage des Eindringens der Salze aus dem Nährmedium in den Pflanzenorganismus noch näher zu treten, habe ich nachstehende Experimente durchgeführt. Die 8 Tage alten Roggen- und Gerstenpflanzen wurden aus dem Keimbeet vorsichtig herausgenommen und in die uns bereits bekannte Nährlösung, die bestimmte Telluritkonzentrationen enthielt, gestellt.

Nachdem die Pflanzen durch 24 Stunden in verschieden starken Konzentrationen gestanden hatten, wurde an ihrer Wurzelspitze die Reaktion mit konzentrierter SnCl_2 ausgeführt. Es zeigte sich, daß die Tellurfällung hauptsächlich an den Wurzelspitzen, hingegen ganz unbedeutend an der Wurzelrinde in der Region der Wurzelhaare stattfand. Um das Eindringen des Tellurs sowie Selenes präziser festzustellen, habe ich die Wurzelspitzen der Versuchspflanze zum Teil in aufgeweichtes Paraffin und zum Teil in kalte Kakao-butter auf kurze Zeit eingetaucht, damit eine Isolierung geschaffen sei. Nachdem derart präparierte Pflanzen in Nährlösungen, wo sich Tellurit befand, durch 24 Stunden gewachsen sind, wurden sie herausgenommen und untersucht. Es zeigte sich, daß die Wurzelspitzen jener mit Paraffin behandelten Wurzeln farblos waren, wogegen jene der Kontrollversuche tief schwarzbraune Färbung trugen.

Die Plasmolyse- und Deplasmolysereaktion der behandelten Wurzelspitzen zeigte sich positiv, und unter dem Mikroskop konnte man eine undurchsichtige gelbschmutzige Masse im Zellinnern der Wurzel-

spitzen wahrnehmen, welche Erscheinung vielleicht auf nötige Wasser- und Sauerstoffentziehung sowie dadurch verursachten Wachstums- und Atmungsstörungen zurückzuführen ist.

An den behandelten Wurzelspitzen war die Reaktion mit SnCl_2 „negativ“, und sehr schwach stellenweise in der Wurzelrinde in Region der Wurzelhaare zu erkennen. Bemerkenswert war, daß an jenen Stellen, wo die Seitenwurzeln bereits angelegt waren, die Reaktion an den Wurzelspitzen dieser Würzelchen und im Zentralgefäßbündelsystem auf dieser Stelle deutlich zu erkennen war.

Analoge Versuche habe ich mit Natriumselenit, welches sich zu diesem Zwecke infolge seiner roten Färbung besonders eignet, durchgeführt. Ich konnte unzweifelhaft beobachten, wo Selen an solchen Wurzeln, deren Spitzen in Paraffin eingewickelt waren, seinen Eintritt gefunden hat. Neben den bereits bei Anwendung des Tellurs geschilderten Erscheinungen konnte man an jenen Stellen, wo die jungen Seitenwurzelanlagen stattgefunden hatten, eine rötliche Färbung beobachten, die sich als ein Faden in das Innere der Hauptwurzel und weiter aufwärts gezogen hat.

Bei diesem Versuche habe ich die Erfahrung gemacht, daß sich Kakaobutter zur Isolierung der Wurzelspitzen infolge ihrer minderen Tüchtigkeit minder eignete; es war aber zu sehen, daß das Zellinnere der Wurzelspitze auch eine gelbschmutzige Färbung angenommen hat.

Jene Exemplare, die in der Konzentration von 0,01335% Te gewachsen waren, zeigten nach 3 Tagen die Struktur der Zellkerne verändert und traten wie bei Anwendung von Selen als homogene, durch Tellur etwas dunkel gefärbte Masse hervor.

Um die Eintrittsstelle der Tellursalze in den Pflanzenorganismus noch näher zu fixieren, habe ich noch weitere Versuche, und zwar mit *Spirogyra* und *Cladophora* angestellt. In der verwendeten Konzentration von 0,00267% Te wuchsen die genannten Algen tagelang fort und die Plasmolyse und Deplasmolyse war positiv gewesen. Bei den wiederholt mit konzentrierter SnCl_2 vorgenommenen Reaktionen ist kein Tellur in den Algenzellen zu konstatieren gewesen. Dieses bildet eine merkwürdige Tatsache, auf welche ich noch zum Schlusse der vorliegenden Abhandlung zu sprechen kommen werde.

II. Einwirkung des TeO_4^{2-} -Ions auf das Gedeihen der Pflanzen.

a) Einwirkung auf die Keimung.

Es wurde die uns übliche Methodik der Versuche eingehalten und die $\text{Na}_2\text{TeO}_4 + 2 \text{H}_2\text{O}$ auf 44,5% Selenit berechnet.

Bei den angekeimten Roggenkörnern aus der Tellurat Konzentration von 0,0534% Te wurde eine Reduktion des Tellurs an den Wurzelspitzen der Keimlinge deutlich beobachtet.

Die Anwesenheit des Fermentes wurde durch analogen Vorgang, wie ich es bereits bei Natriumselenit geschildert habe, festgestellt. Ich gelangte zu dem Resultate, daß Tellurfällung bei beiden Versuchsreihen zum Vorschein kam, was jedoch bei der ungekochten Versuchsreihe deutlicher war.

b) Einwirkung des TeO_4^{2-} -Ions auf erwachsene Pflanzen.

Analog meinen früheren Versuchen wurden die 8 Tage alten Roggen- und Gerstenpflänzchen aus dem Keimbeet herausgenommen und in Nährlösungen mit den verschiedenen Konzentrationen gebracht.

Jene Exemplare, welche in die Konzentration von 0,01335% Te gestellt waren, habe ich täglich durch die ersten 4 Tage-fixiert, obgleich die Plasmolyse deutlich vor sich ging und die Blätter vollkommen normales Aussehen hatten. Bei den ersten Untersuchungen konnte ich bereits konstatieren, daß sich die Zellkerne etwas vergrößerten und sich etwas granuliert zeigten. Auch Nucleolus nahm an Größe zu. In den Zellkernen, deren Struktur anscheinend normales Aussehen zeigte, kam gefälltes Tellur schön zum Vorschein. Am 3. Tag konnte ich bereits die Gestalt der Zellkerne sowie ihre Struktur verändert sehen und nach 4 Tagen wurde beim Roggen die Bildung der Nucleolini beobachtet. Die vom Zellkern angenommene Struktur war eine Wabenstruktur und die entstandenen Nucleolini wiesen eine rötlich gefärbte Umhüllung auf, welche in der Mitte ein Fleckchen von farblosem Kernsaft seltener Nucleoill hatte.

Dieselben Erscheinungen, jedoch um ca. 24 Stunden früher, wurden noch viel deutlicher bei der Gerstenpflanze konstatiert. Zum Schlusse habe ich noch eine Reihe Versuche mit Tellursalzen in bezug auf Panachementerscheinungen vorgenommen und kam zu dem Resultate, daß Tellursalze bei Anwendung der gleichen Konzentrationen, wie es beim Natriumselenat der Fall gewesen war, kein Panachement hervorzurufen vermochten.

Schlußfolgerungen.

Um dem Leser klarzumachen, warum ich bei meinen Versuchen das größte Gewicht auf die Beobachtungen der Wurzelspitzen legte, wird es notwendig sein, einiges aus dem Vorhergesagten zu rekapitulieren.

Kny hat wahrgenommen, daß die Nitratreaktion mit Dyphenylaminschwefelsäure bei *Zea mays* im Innern der Rindenzellen, bei *Hydrocharis morsus ranae* hingegen vorwiegend oder ausschließlich außerhalb des Wurzelgewebes zuerst deutlich wurde und bei letzteren Pflanzen die Reaktion erst nach Zerstörung der Gewebe durch Schwefelsäure zustande kam. Diese diver-

gierende Erscheinung erklärt sich Autor etwa durch Einlagerung eines Stoffes in die Membran, welche die Reaktion bei *Hydrocharis morsus ranae* innerhalb der Rindenzellen verhinderte.

Nachdem bekannterweise die Verholzung der Membranen die Nitratreaktion hindert, können auch die bezüglichlichen Resultate Knys nicht als zuverlässlich betrachtet werden. Was das Verhalten der Wurzelspitze bei der Nitratreaktion anbelangt, muß ich die Frage aufwerfen, warum dieses Organ nicht dieselbe Fähigkeit besäße, die Nitratreaktion in derselben Weise zu unterdrücken, wie die Rindenzellen der *Hydrocharis morsus ranae* es gezeigt haben?

Die Wurzelspitze kann die Reaktion gerade so gut unterdrücken, um so mehr, als sie den lebensfähigsten Teil des Pflanzenorganismus bildet. Die von Kny gefundene Tatsache, daß die Reaktion bei *Zea mays* im Innern der Rindenzellen stattfand, stimmt mit den Resultaten meiner Versuche vollkommen überein. Die Nitrate dringen demnach auch durch die Wurzelhaube in den Pflanzenorganismus und werden wieder beim Austritt aus dem Gefäßbündel konstatierbar. Merkwürdig ist aber die von Kny gemachte Wahrnehmung, die bei allen drei untersuchten Arten mehrfach festgestellt wurde, daß zu derselben Zeit, wo in den mit Wurzelhaaren besetzten Teilen erst sich die Epidermis gefärbt hatte, in den jüngeren Teilen außerhalb der Haube die Farbe mehr oder weniger tief bis in die Rinde eingedrungen war.

Die Ansichten aller Forscher und insbesondere der von Overton aufgestellte Satz über die Permeabilität der Pflanzenzelle für anorganische Salze stimmen auch mit meinen Beobachtungen vollkommen überein, wo ich konstatieren konnte, daß weder Selen- noch Tellursalze in nennenswerten Mengen in die Region der Wurzelhaare einzudringen vermochten. Dasselbe Verhalten zeigten genannte Salze auch bei meinen Versuchen mit *Cladophora*- und *Spirogyrazellen*.

Es ist bekannte Tatsache, daß bei zahlreichen Gramineen- und Cyperaceenwurzeln die primäre Rinde verhältnismäßig frühzeitig abstirbt und vertrocknet, wogegen der von der Schutzscheide umhüllte Zentralstrang späterhin aus vollständig lebensfrischen Geweben besteht und in normaler Weise weiter fungiert. Uns ist auch bekannt, daß bei Gramineen, Cyperaceen, Juncaceen, manchen Palmen und anderen Monocotylen die Schutzscheide oft spät inpermeabel wird.

Wenn wir die Reihe unserer Versuche mit Natriumtellurit- und Selenitsalzen von der ersten embryonalen Entwicklung der Pflanze angefangen betrachten, so können wir uns ein genaues Bild über die Nährsalzaufnahme durch das Wurzelsystem machen.

Die ersten Lebensprozesse der Keimlinge lassen uns bei Anwendung von Natriumselenit die Aufnahme dieses Salzes durch die Wurzel-

scheide über die Wurzelhaube in die embryonalen Anlagen des Gefäßbündelsystems deutlich beobachten. Der rote Faden, der sich bei unseren Keimversuchen mit Natriumselenit in niederen Konzentrationen auf eine kleine Strecke von der Wurzelspitze in dem Zentralgefäßbündelstrang nach aufwärts zog, so auch meine Versuche mit Natriumtelluritsalzen in verschiedenen Lebensstadien der Pflanze, lassen uns die ungemein wichtige Bedeutung der Wurzelhaube, und zwar wegen ihrer Beschaffenheit, welche sich durch außergewöhnliche Permeabilität kundgibt, erkennen (siehe Abb. 2). Dieses Organ spielt gewiß bei der Ernährung der Pflanze eine hervorragende Rolle, da es die „Eintritts-“ und „Filtrierungsstelle“ für die Nährsalze darstellt.

Die Tatsachen, daß die Wurzelscheiden der Felsen- und Stepppflanzen sowie derjenigen Gewächse, die auf Kalkfelsen und Mauern vorzufinden und sowohl auch im allgemeinen die Wurzeln der Pflanzen der warmen Zonen ganz außergewöhnliche Membranverdickungen aufweisen, und daß ähnliche Verstärkungen auch bei manchen hydrophilen Gewächsen sich finden, deren Standorte zeitweise austrocknen, so z. B. bei *Tofieldia calyculata*, *Iris sibirica*, *Juncus glaucus* usw., dagegen die Pflanzen der tiefen Moore, wo der Standort konstant weich bleibt, die Wurzelscheiden ohne mechanische Verstärkungen aus Cellulose besitzen, lassen es unbegreiflich, diese mechanischen Verstärkungen der Schutzscheiden, wie Schwendener¹⁾ meint, auf Zug- und Druckspannung zurückzuführen. Schwendeners Meinung würde den Tatsachen dann entsprechen, wenn gerade diese Membranverdickungen nicht auf Kalkfelsen und Mauern usw. zustande kämen, sondern vielmehr auf schweren Lehm- und Tonböden der trockenen Standorte. Diese Böden sind infolge ihrer Kohäsionskraft sehr starken physikalischen Veränderungen unterworfen. Solche Böden erscheinen während der Trockenperiode an ihrer Oberfläche vollständig gerissen. Ähnliche Erscheinungen sind, in trockenen Standorten auf leichten Sandböden wegen ihrer physikalischen Eigenschaften, nicht zu verzeichnen. Daraus erklärt sich auch der berechtigte Zweifel, den Haberlandt in seinem Buche „Physiologische Pflanzenanatomie“ auf S. 337 wiedergibt, in dem er die Endodermen behandelt:

„So gewiß nun alle diese Verstärkungseinrichtungen die mechanische Widerstandsfähigkeit der Scheide erhöhen müssen, so schwer fällt es andererseits, eine vollkommen klare Vorstellung von der mechanischen Inanspruchnahme der Schutzscheide zu gewinnen.“

Wenn wir die Tatsache ins Auge fassen, daß die Ernährung der Pflanzen ohne Wurzelhaare und Wurzelrinde vor sich geht (wie

¹⁾ Schwendener, Leipzig 1874.

es der Fall bei zahlreichen Gramineen und Cyperaceen ist, auch können wir die Entwicklung der Wurzelhaare, wie Hausteen bewiesen, nach Belieben hervorrufen und unterdrücken) finden wir unsere Annahme, daß die Wurzelspitzen diejenigen Organe sind, welche bei der Transpiration und beim Stoffwechsel für die oberirdischen Pflanzenteile „beträchtlich“ in Betracht kommen, bestätigt.

Hierdurch erklärt sich auch die merkwürdige Verstärkung der Schutzscheide, welche bei oben erwähnten Pflanzen der trockenen Standorte regelmäßig vorkommt, denn diese Pflanzen sind eben durch ihren Standort gezwungen, sich das nötige Wasser sowie darin gelöste Salze durch solche Verdickungen zu sichern.

Das Verhalten der Zellkerne an den Wurzelspitzen, was so lehrreich mit Natriumtellurit studiert werden kann, spricht deutlich für die Annahme, daß dieses eine besondere biochemische Funktion zukommt, indem sie eine ähnliche Rolle wie die „Phagocyten“ im Blute des Tierorganismus spielen und die schädliche Einwirkung der Salze durch Aufspeichern in ihrem Innern zu beseitigen suchen.

Unsere Versuche lassen ersehen, daß die physiologische Einwirkung der Salze mit ihrem Atomgewicht nicht parallel verläuft.

Bei unseren Versuchen kamen wir zu der Überzeugung, daß die bei den Pflanzen vorkommenden Absterbeprozesse bei den unterirdischen Pflanzenteilen ihren Anfang nehmen, was ganz begreiflich ist, wenn wir bedenken, daß diese im innigsten Kontakt mit dem Nährmedium stehenden Teile die ersten die Gleichgewichtsstörungen unter normalen Verhältnissen empfinden müssen. In Anbetracht der geschilderten Versuchsergebnisse können wir wohl eine tiefgreifende Änderung der bis jetzt über die Absorptionsgewebe des Wurzelsystems herrschenden Ansicht erwarten.

Über die subacute Uranvergiftung der Kaninchen.

Von

Bernhard Bartfeld.

(Aus dem biochemischen Laboratorium des Krankenhauses Moabit in Berlin.)

(Eingegangen am 15. Februar 1922.)

Die akute Uranintoxikation ist bereits Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Am 1. bis 2. Tage nach der Vergiftung mit großen oder mittleren Dosen, sei es per os oder subcutan, bieten die Tiere die Symptome einer schweren Nephritis mit Albuminurie, Cylindrurie, zuweilen auch Hämaturie und gehen etwa am 5. Tage unter Anurie zugrunde. Regelmäßig tritt auch, meist am 2. Tage, Zucker im Urin auf. Unter gewissen Bedingungen findet sich auch Hydrops der serösen Höhlen und der Haut.

*Fleckseder*¹⁾ zeigte, daß die Ödembildung vom Wasserreichtum der Tiere abhängt, daß sie nur bei Grünfütter oder gleichzeitiger Wasserdarreichung zustande kommt, sobald die Harnsekretion versiegt, daß sie dagegen ausbleibt, wenn die Tiere Trockenkost bekommen oder bei noch offenen Harnwegen sterben. Er zeigte ferner, daß es sich dabei um direkte Wirkung des Urans auf die Blutgefäße des Körpers handelt, denn der Hydrops ließ sich auch am nephrektomierten Tier mit Uran erzeugen, während nicht vergiftete Tiere unter sonst gleichen Bedingungen keine Ergüsse aufwiesen.

Auch *Richter*²⁾ konnte feststellen, daß die Ödeme nur bei Grünfütter auftraten, daß sie größer wurden, wenn er gleichzeitig Wasser per os verabreichte. Der Gefrierpunkt des Blutes war in den ersten Tagen häufig bedeutend erniedrigt, stieg jedoch zur Norm gradatim mit den auftretenden Ergüssen, deren Gefrierpunkt weit unter dem des Blutes lag, an. Die Uranglykosurie wird von *Frank*³⁾ mit Bestimmtheit als renalen Ursprungs angesehen. Er fand normale oder nur unwesentlich erhöhte Zuckerwerte im Blutplasma, während der Urin unmittelbar vorher und nachher nicht unerhebliche Mengen Zucker aufwies.

*Schlayer*⁴⁾ und seine Mitarbeiter prüften die Funktionen der Uranniere in den verschiedensten Stadien nach der Vergiftung. Sie bestimmten die Ausscheidungsfähigkeit für Kochsalz, Jodkali und Milhzucker und die volumetrische und sekretorische Reaktion der Nierengefäße auf Coffein, Adrenalin und Salzinjektion. Dabei zeigte sich, daß die Uranniere anatomisch wie funktionell im wesentlichen sich wie die

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **56**.

2) Beitr. z. klin. Med. Festschr. für Senator. 1904.

3) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **72**. 1913.

4) Dtsch. Arch. f. klin. Med. **98**. 1910.

Chrom- und Sublimatniere verhält. Es findet sich in den ersten Stadien im anatomischen Bild nur eine mehr oder weniger starke Schädigung der Tubuli und gleichzeitig werden Jodkali und Kochsalz verzögert ausgeschieden, letzteres in sehr herabgesetzter Konzentration. Die Nierengefäße, die anatomisch intakt erscheinen, zeigen auf die Kontraktions- und Dilatationsreize gesteigerte Erregbarkeit. Die Harnsekretion ist gesteigert. Der Milhzucker wird in normaler Zeit ausgeschieden. Im Endstadium zeigt sich entsprechend der versiegenden Harnsekretion geringe oder aufgehobene Anspruchsfähigkeit der Nierengefäße und verzögerte Milhzuckerausscheidung. Dabei läßt das histologische Bild oft sehr wenig oder gar nichts von Gefäßschädigung erkennen. Danach ist das Uran im wesentlichen ein tubuläres Gift wie Chrom und Sublimat. Aus dem weitgehenden Parallelismus zwischen anatomischer Tubulusläsion und verschlechterter Ausscheidung von Kochsalz und Jodkali schließen sie, daß diese beiden Substanzen normalerweise von den Tubulis sezerniert würden, während die Milhzuckerausscheidung über den Zustand der Nierengefäße unterrichte.

In all den zitierten Arbeiten war, wie bereits erwähnt, ein akutes Krankheitsbild durch große oder mittlere Giftdosen erzeugt worden. Um ein verschiedenes, nicht nur quantitativ, sondern auch qualitativ anderes Krankheitsbild handelt es sich bei der durch kleinste Urاندosen (einmalige subcutane Injektion von 0,35 mg Urannitrat) erzeugten Vergiftung hafergefütterter Kaninchen, wie sie *Pohl*¹⁾ beschreibt. Etwa 2—3 Tage nach der Vergiftung enthält der Urin seiner Tiere als Zeichen der beginnenden Nierenerkrankung Albumen. Nach ungefähr 5—7 Tagen setzt eine zunehmende Polyurie ein. Der Urin enthält beträchtlich vermehrte Stickstoff- und Kochsalzmengen. Die Tiere verweigern die Nahrung und gehen unter rapider Gewichtsabnahme etwa am 9. bis 15. Tage bei bestehender Polyurie ein. Die N-Verteilung im Urin ist unverändert. Beschränkung der Wasseraufnahme bleibt ohne Einfluß auf den Ablauf der Krankheit. Ein Tier hatte beim Tode im Blute nur 0,145% Kochsalz, ein anderes 0,27%, ein drittes weit unter der Norm liegende Kochsalzwerte in Muskel und Leber. Kochsalzinjektion ändert aber nichts am Krankheitsbilde. *Pohl* weist selbst darauf hin, daß die Chlorverarmung nicht das Wesentliche der Krankheit sein könne, da die Tiere nichts von den Symptomen starker Chlorverarmung, wie sie von *Grünwald*²⁾ beschrieben sind, zeigen. Auch Injektion von Natriumnitrat oder Natriumcarbonat beeinflusste die Erkrankung nicht. Zusammenfassend sagt *Pohl*: „Das Wesentliche dieses Prozesses scheint mir in dem pathologisch gesteigerten Stoffumsatz zu liegen, der, kombiniert mit dem gleichzeitig einsetzenden Hungerzustand, der Gewebedurchspülung, die rapide Konsumption der Tiere bedingt. Mit der Urämie als Retentionsintoxikation von stickstoffhaltigem Material aufgefaßt, hat die Vergiftung keine direkt nachweisbare Beziehung. Eher könnte man geradezu durch den Ablauf unserer Experimente bestimmt den gegenteiligen wichtigen Schluß ziehen, daß auch die Urämie nichts mit der Retention von stickstoffhaltigem Material zu tun hat.“ An seinen histologischen Präparaten glaubte *Pohl* starken Epithelausfall, Dilatation der Harnkanälchen bei intakten Glomerulis zu erkennen. Anschließend an diese Arbeit nahm *Baehr*³⁾ an Kaninchen, die mit gleicher Dosis vergiftet waren, zahlreiche histologische Untersuchungen der Nieren vor. Er fand sehr kontrastierende Bilder: Hochgradige Epithelnekrosen und -verkalkungen einerseits, völliges Fehlen pathologischer Veränderungen andererseits und alle Übergänge zwischen diesen Gegensätzen. Die Epithelschädigung komme danach für die Polyurie nicht in Betracht.

1) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 67.

2) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. 60. 1909.

3) Dtsch. Arch. f. klin. Med. 109.

Sollte diese jedoch im Sinne *Schlayers* auf einer Hyperfunktion der Nierengefäße beruhen, so müßte man als Grund für die vermehrte Kochsalzausscheidung eine gleichzeitige Übererregbarkeit der Epithelien annehmen; dies sei jedoch zumindest für die Fälle mit schwerer Epithelnekrose zweifelhaft; alles spräche somit mehr für eine Stoffwechselstörung, die den Nieren Stoffe in erhöhtem Maße zuführe. *Dünner*¹⁾ glaubte, das Krankheitsbild sei durch eine primäre Uranwirkung auf die Niere bedingt. Denn nach Injektion des Urans direkt in die Nierenarterien erhielt er das *Pohlsche* Krankheitsbild, während bei der Injektion von Uran in eine Nierenarterie mit nach einigen Stunden folgender Exstirpation der betreffenden Niere die Tiere gesunde blieben. Intravenöse Kalkzufuhr beschleunigte den Ablauf der Krankheit. Bei späterer Untersuchung der von diesen Tieren gewonnenen Präparate zeigten sich an den Nieren so geringe Veränderungen, daß *Dünner* und *Siegfried*²⁾ zu dem Schluß kamen, die Läsion der Nieren sei im Verhältnis zu der der übrigen Organe nur gering, während das Wesen der Krankheit in einer noch ungeklärten Schädigung des Gesamtorganismus zu suchen sei.

*Folin*³⁾ fand bei Katzen nach subcutaner Injektion kleinster Uranmengen geringe Erhöhung des Rest-N im Blut. Harnanalysen fehlen.

Austin und *Eisenbrey*⁴⁾ beobachteten wie *Pohl* nach kleinsten Urandosens Polyurie, vermehrte Ausscheidung von N und NaCl. Sie vermuten gesteigerten Eiweißzerfall, ohne dies näher zu begründen.

Wie man sieht, liegen bisher einige Arbeiten vor, die zwar bemerkenswerte Ergebnisse gezeitigt haben, aber nichts Endgültiges über das Wesen des interessanten *Pohlschen* Krankheitsbildes zu sagen vermochten, von dessen Aufklärung sich ein vertiefter Einblick in die Nierenpathologie erhoffen läßt.

Es war auf Anregung von Herrn Prof. *M. Jacoby* der Plan der vorliegenden Arbeit, in Serienanalysen zu untersuchen:

1. *Welche Veränderungen treten im Verlauf der Pohlschen Krankheit im Blut auf?*

2. *Erscheinen sie vor, mit oder nach den Veränderungen des Harns?*

3. *Wie verhalten sich Blut und Harnbefunde quantitativ zueinander?*

Durch solchen Vergleich der Blut- und Harnanalysen schien es möglich, die Frage zu entscheiden, inwieweit in einer Allgemeinerkrankung oder der Nephritis das Wesen des Prozesses liege.

Methodik.

Die Kaninchen wurden mit Hafer und so viel Rüben ernährt, als zur Erhaltung des Körpergewichtes gerade ausreichend war. Die nötigen Mengen wurden durch mehrtägige Beobachtung ermittelt. Da die Tiere auch während der Krankheit die vorgelegten Rüben auffraßen, so war damit eine konstante, mäßige Wasseraufnahme erzielt. Es wurden alle 24 Stunden gleiche Mengen Nahrung vorgelegt

¹⁾ Zeitschr. f. klin. Med. **81**. 1915.

²⁾ Zeitschr. f. exp. Pathol. u. Therap. **21**. 1920.

³⁾ Journ. of exp. med. **16**. 1912.

⁴⁾ Journ. of exp. med. **14**. 1911.

und die übriggelassene Nahrung zurückgewogen. Zum Verständnis der Tabellen ist zu bemerken, daß die aufgenommene Nahrung wie der spontan gelassene Urin von 9^h morgens bis zum folgenden Tage morgens 9^h abgegrenzt wurden und in den Tabellen das Datum vom Beginne der Abgrenzung erhielten. War die nach 24 Stunden vorhandene Urinmenge für die vielseitige Analyse zu gering, so wurde der Urin von 2 oder 3 Tagen gemeinsam analysiert. Dies änderte nichts an der Beurteilung des Verlaufs, da es nur vor der Vergiftung bisweilen nötig wurde. Der Stickstoff wurde nach *Kjeldahl*, der Harnstoff nach dem *Ambardschen* Bromlaugeverfahren bestimmt. Enteiweißt wurden die Urine nach den Angaben *Pohls* durch Verdünnen auf vierfaches Volumen und Zusatz von einem Tropfen 33proz. Essigsäure mit folgender vorsichtiger Hitzekoagulation. NaCl wurde nach *Larsson* bestimmt. Das Blut wurde, sofern nicht anders vermerkt, immer morgens gegen 9^h aus einer Ohrvene entnommen. Die Tiere wurden dabei ruhig, in sitzender Stellung gehalten, um Schwankungen des Blutzuckers, die durch Fesselung oder sonstige Aufregung der Tiere leicht eintreten, zu vermeiden. Blutzucker und NaCl wurden nach den *Bangschen* Mikromethoden¹⁾ stets in 2—3 Kontrollen bestimmt. Die Blutzuckerkontrollen differierten höchstens um 10 mg auf 100 ccm Serum, meist nur um 5—7 mg. Die Kochsalzkontrollen stimmten meist genau überein, differierten nur selten um höchstens 20 mg pro 100 ccm Serum. Zur Eiweißbestimmung in 1—2 Tropfen Serum diente das *Pulfrichsche* Refraktometer. Die Gefrierpunktserniedrigung wurde mit ca. 10 ccm defibrinierten Blutes am *Beckmannschen* Thermometer gemessen, der Gefrierpunkt des Wassers jedesmal gleichzeitig bestimmt. Danach wurde dasselbe Blut zur Bestimmung des Bromlauge-N verwendet. Zur Rest-N-Bestimmung wurde mit 20proz. Trichloressigsäure enteiweißt.

Experimentelles.

Kaninchen 1.

Beim ersten Tier gelang es nicht, das gewünschte *Pohlsche* Bild hervorzurufen. Vom 3. bis 5. Tage nach der subcutanen Injektion von 0,5 ccm 0,07proz. (= 0,35 mg) Urannitrat waren geringe Mengen Zucker im Urin, vom 6. bis 8. Tage $\frac{1}{2}\frac{0}{00}$, $\frac{1}{4}\frac{0}{00}$ und $\frac{3}{4}\frac{0}{00}$ Albumen nach *Esbach*. Polyurie trat nicht ein, ebensowenig vermehrte Ausschwemmung von Kochsalz und Stickstoff. Einzig bemerkenswert war die Gefrierpunktserniedrigung von 0,73° im Blut gegenüber 0,60° am Tage vor der Vergiftung. 36 Tage nach der Injektion schien das Tier noch vollkommen gesund, der Urin zeigte nichts Pathologisches. Am 31. Tag post inject. betrug der Gefrierpunkt —0,56°. Am 35. Tage wurden 30 ccm Carotishlut entnommen und 0,052% Rest-N im Serum ermittelt. Dann wurde das Tier außer Beobachtung gebracht. Es wurde nach 10 Tagen im Stall tot aufgefunden. Sein Gewicht war seit dem letzten Tage der Beobachtung von 1570 auf 1240 g heruntergegangen. In der rechten Pleurahöhle fand sich 15 ccm trübes Exsudat. Im übrigen zeigten die Organe makroskopisch und mikroskopisch keine Veränderungen.

¹⁾ Mikromethoden zur Blutuntersuchung. 1920.

Kaninchen 2.

Tabelle 1.

Seit 22. II. in Beobachtung, aus äußeren Gründen erst am 18. III. ver-
 28 cem. der Kochsalzgehalt 0,17 g, der Gesamtstickstoff (GN) 0,293 g pro die.
 Tagen ausgeführt. Es betrug: Blutzucker 1. 0,134%, 2. 0,131%. Blutkoch-
 Reiß'schen Tabelle 1. 1,34881, 2. 1,34877, 3. 1,34866. (Eine Umrechnung
 Krankheit eintretenden Urämie unterbleibend)

Datum	Nahrung			Urin					
	Gewicht	Hafer	Ruben	Menge	Spez. Gewicht	Sacchar. %	Albumen	NaCl g	GN g
6. III.	1900	70	60	76	1024	—	—	0,24	0,27
7. III.	1900	70	60	55	1017	—	—	0,32	0,30
8. III.	1850	30	60	59	1023	—	—	0,17	0,27
9. III.	1850	60	60	38	1021	—	—	0,16	0,25
10. III.	1850	50	60	31	1026	—	—	0,09	
11. III.	1900	60	60	58	1010	—	—		
12. III.	1900	60	60	97	1014	—	—		
13. III.	1900	70	60	84	1015	—	—		
14. III.	1930	60	60	120	1010	—	—		
15. III.	1870	60	60	80	1015	—	—		
16. III.	1850	60	60	65	1010	—	—	0,18	0,24
17. III.	1830	45	60	70	1009	—	—	0,21	0,27
18. III.	1800	30	60	33	1018	—	—	0,20	0,27
19. III.	1760	10	60	72	1013	—	—	0,11	0,27
20. III.	1750	—	60	30	1032	0,4	—	0,10	0,27
21. III.	1780	60	60	102	1024	1,4	++	0,12	0,28
22. III.	1800	35	60	58	1020	0,6	++	0,17	0,28
23. III.	1770	15	60	81	1016	—	++	0,22	0,27
24. III.	1800	10	60	70	1012	—	—	0,14	0,25
25. III.	1750	20	60	44	1021	—	—	0,10	0,27
26. III.	1730	10	60	70	1021	—	—	0,08	0,25
27. III.	1780	40	60	90	1024	—	—	0,13	0,26
28. III.	1800	30	60						
29. III.	1760	70	60	33	1037	—	—	0,11	0,27
30. III.	1750	40	60	33	1032	—	—	0,11	0,27
31. III.	1740	50	60	49	1032	—	—	0,17	0,26
1. IV.	1800	45	60						
2. IV.	1770	40	60	42	1042	—	+	0,16	0,27
3. IV.	1780	?	60						
4. IV.	1800	30	60	42	1029	—	—	0,08	0,23
5. IV.	1800	50	60	42	1049	Spur	Spur	0,29	0,27
6. IV.	1780	70	60						
7. IV.	1830	40	60	30	1052	Spur	+	0,25	0,26
8. IV.	1800	100	60						
9. IV.	1800	?	60	4		Spur	Spur		
10. IV.	1800	50	60	68	1026	0,4	++	0,23	0,27
11. IV.	1720	50	60	60	1010	0,4	++	0,13	0,25
12. IV.	1700	40	60	80		Spur	+	0,22	0,27
13. IV.	1620	—	60	94	1009	Spur	+	0,23	0,27
14. IV.	1550	—	60	110	1012	—	Spur	0,13	0,24
15. IV.	1450	—	60	60	1015	—	Spur	0,16	0,27
16. IV.	1380	—	60	80	1017	—	—	0,17	0,27
17. IV.	1300	—	60	93	1020	—	Spur	0,18	0,27
18. IV.	1200	—	60	55	1020	—	—	0,07	0,25

Kaninchen 2.*Tabelle I.*

giftet. Vom 22. II. bis 5. III. betrug im Durchschnitt die Menge des Harns in dieser Zeit wurden mehrfache Bestimmungen in Abständen von einigen salz 1. 0,53⁰/₀, 2. 0,53⁰/₀, 3. 0,51⁰/₀, 4. 0,50⁰/₀. Brechungsindex nach der der Brechungsindices in Eiweißprocente mußte wegen der im Verlaufe der Täglich 100 g Hafer und 60 g Rüben vorgelegt.

Blut					Bemerkungen
sacchar. %	NaCl %	Brechungsindex	Gefrier- punkt	+ U mg	
0,129		1,34873 1,34877			18. III. 0,35 mg Urannitrat in 0,5 ccm Wasser subcutan
0,135	0,47	1,34843			
0,174	0,50	1,34750	-0,89°	19,8	
0,128	0,52				
0,162	0,55	1,34694			
0,129	0,52				
0,123	0,52	1,34768			
0,130	0,53	1,34791			
0,164	0,52	1,34717	-0,61°		
0,124	0,54	1,34809			
0,118	0,53	1,34798			
0,114	0,54	1,34798			9. IV. 0,7 mg Urannitrat wasser- frei in 1 ccm Wasser subcutan
0,143	0,52	1,34809			
0,164	0,53	1,34858			
0,121		1,34757			
0,162		1,34836			
0,153	0,55	1,34984			
0,138	0,56	1,35106	-0,84°	411,3	
0,144	0,62	1,35162			
0,179	0,62	1,35028			
					19. IV. tot gefunden

Wie aus Tabelle I hervorgeht, besteht bereits am 2. Tage nach der Vergiftung Glykosurie, am nächsten Tage Albuminurie und mäßige Vermehrung der Urinmenge. Stickstoff und Kochsalzmenge im Harn normal. Bereits am 5. Tage post injectionem ist der Harn wieder zuckerfrei, am 6. Tage eiweißfrei. Klinisch ist an dem Tier keine Veränderung zu bemerken. Der Blutzucker ist etwas erhöht, doch nicht so, daß er die Ursache der Glykosurie sein müßte. Das Blut ist etwas hydrämischer, sein Kochsalzgehalt unverändert. Die bis dahin einzig wesentliche, dafür aber auch sehr auffallende Veränderung ist die Erniedrigung des Blutgefrierpunktes bis $-0,89^{\circ}$, während die Bestimmungen des Harnstoffs und des NaCl normale Werte ergeben. Wider Erwarten bleibt das Tier munter. Im Harn treten Zucker und Eiweiß nicht wieder auf, die N- und NaCl-Werte bleiben unverändert. Die Harnmengen sind gering. Am 16. Tage post injectionem gefriert das Blut bei $-0,61^{\circ}$. Es ist also auch die auffallende und noch ungeklärte Gefrierpunktserniedrigung wieder normal geworden. Das Tier scheint vollkommen gesund. Daher erneute Injektion von 0,7 mg Urannitrat (eines anderen wasserfreien Präparates), dieses Mal mit prompter Wirkung. Nach 2 Tagen bereits Polyurie, Glykosurie und Albuminurie. Nach einigen Tagen tritt auch vermehrte Ausscheidung von NaCl und namentlich N ein. Das Tier nimmt rapide ab und wird zusehends elender. Vom 5. Tage an lehnt es den Hafer völlig ab und frißt nur noch die vorgelegten Rüben begierig auf. Im Blut ist der Zucker unverändert, Kochsalz ganz zuletzt etwas gesteigert. Am 13. IV. wurde Blut für den Gefrierpunkt entnommen, ging aber vor der Bestimmung verloren. Von einer sofortigen neuen Blutentnahme wurde abgesehen, um nicht den spontanen Ablauf der Krankheit in unkontrollierbarer Weise zu beeinflussen. Nach weiteren 3 Tagen gefriert das Blut bei $-0,84^{\circ}$. Der Harnstoff beträgt 411 mg. Und dies trotz der vermehrten N-Ausscheidung. Auch der Brechungsindex ist erhöht, wohl infolge des erhöhten Harnstoffgehaltes und des Wasserverlustes.

Beim Kaninchen 3 wurde, wie aus Tabelle II ersichtlich, um etwaigen Differenzen in der Beschaffenheit der Präparate auf die Spur zu kommen, wieder das beim vorigen Tier zuerst gegebene krystallinische Urannitrat injiziert. Die Wirkung war dieses Mal sehr stark. Am 9. Tage bereits Exitus. Deutliche Urinvermehrung vom 4. Tage bis zum Tode, Albuminurie vom 2. Tage ab, Glykosurie vom 3. bis 5. Tage. NaCl-Ausscheidung deutlich, N-Ausscheidung nur wenig gesteigert. Im Blute Zucker zunächst etwas vermehrt, NaCl in den letzten Tagen gesteigert. Der Gefrierpunkt am 5. Tage post injectionem merklich, am 8. Tage erheblich erniedrigt. Der Harnstoff am 5. Tage noch normal, am 8. vermehrt. Der terminale Rest-N (bestimmt in 30 ccm Carotisblut) stark erhöht.

Kaninchen 8.

Tabelle II.

Täglich 100 g Hafer und 70 g Rüben vorgelegt.

Nr.	Gew.	Nahrung		Urin						Blut				
		Hafer	Rüben	Menge	Spez. Gew.	Sacchar.	Albumen	NaCl g	GN g	Sacchar. %	NaCl %	Brechungsindex	Gefrierpunkt	+ U mg
V.	2080	70	70	20	1050	—	—	0,10	0,922	0,119	0,41	—	—	—
V.	2090	60	70	17	1060	—	—	—	—	—	—	—	-0,61°	28,7
V.	2100	50	70	26	1065	—	—	0,18	0,784	—	0,47	—	—	—
V.	2050	50	70	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V.	2050	30	70	32	1055	—	—	0,15	0,692	0,11	0,49	—	—	—
V.	2050	80	70	17	1052	—	—	0,09	0,422	0,104	0,48	1,34750	—	—
V.	2100	80	70	17	1055	—	—	0,09	0,452	0,136	0,49	1,34805	—	—
V.	2100	70	70	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
V.	2100	70	70	31	1052	—	—	0,19	—	0,135	0,49	1,34873	—	—
0,35 mg krystall. Urannitrat in 0,5 ccm Wasser subcutan.														
V.	2120	60	70	35	1051	—	—	0,17	0,750	0,174	0,49	1,34761	—	—
V.	2100	60	70	28	1051	—	Spur	0,12	0,510	0,172	0,47	1,34761	—	—
V.	2100	60	70	27	?	Spur	Spur	0,09	0,587	0,148	0,49	1,34765	—	—
V.	2110	50	70	112	1030	1,4%	3 ⁰ / ₁₀₀	0,22	—	0,127	0,48	1,34805	-0,65°	45,2
V.	2100	—	70	90	1021	0,8%	1 ⁰ / ₁₀₀	0,36	0,640	—	—	—	—	—
V.	1800	—	70	84	1019	—	1 ⁰ / ₂₀₀	0,26	0,623	0,111	0,58	1,34847	—	—
V.	1680	—	70	70	1018	—	1 ⁰ / ₄₀₀	0,19	0,541	0,148	0,58	1,34958	0,76°	156,1
V.	1660	—	30	50*)	—	—	—	—	—	0,129	0,64	1,34958	—	—
V.	1460	tot gefunden.												

*) Davon 30 ccm in der Blase.

**) 134,1 mg Rest-N.

Die gewonnenen Resultate sind im wesentlichen so gleichsinnig ausgefallen, daß sie trotz der geringen Zahl der Versuche verwertbar erscheinen. Um Wiederholungen zu vermeiden, seien hier nur die wichtigen Befunde nochmals zusammengestellt und miteinander verglichen.

Ergebnisse:

Im Harn:

1. 2—3 Tage nach jeder Injektion tritt als erstes Zeichen der Erkrankung Zucker im Harn auf, auch bei den Tieren, die sich bald wieder erholen oder gar nicht weiter krank werden. Die Glykosurie ist mäßig und schwindet nach wenigen Tagen, gleichgültig, ob die Tiere gesunden oder die Erkrankung fortschreitet (siehe auch Tier 4 und 5). Auch *Dünner* beobachtete diese kurzdauernde, oft nur einen Tag anhaltende Glykosurie bei den meisten seiner Tiere. *Pohl* berichtet gar nichts über dieses Symptom.

2. Etwa gleichzeitig erscheinen im Harn Albumen und Zylinder. Ihre Menge nimmt mit fortschreitender Krankheit ab.

3. Unsere Versuche bestätigen die Erfahrung *Dünners*, daß die NaCl- und N-Ausschwemmung nicht immer so ausgesprochen ist, wie

es die *Pohl*schen Angaben vermuten lassen. Eine verminderte Ausscheidung dieser Stoffe fand sich jedoch in keinem Falle, weder bei *Dünner* noch bei uns.

Im Blut:

1. Der Gefrierpunkt ist bei beiden Tieren etwa 4—5 Tage nach der Vergiftung merklich, später beträchtlich erniedrigt. Bei dem Tiere Nr. 2, das zunächst klinisch gar nicht krank wurde, wurde der Gefrierpunkt wieder normal. Als dieses nach der 2. Injektion krank wurde, war auch der Gefrierpunkt wieder erniedrigt.

2. Der Harnstoff im Blute ist am 4. bis 5. Tage nach der Vergiftung nicht erhöht. Die Gefrierpunktserniedrigung hat also andere, noch nicht aufgedeckte Ursachen. Gegen Ende der Vergiftung war der Rest-N-Gehalt des Blutes immer stark vermehrt.

3. Der Brechungsindex steigt mit fortschreitender Erkrankung an. Nach *Reiss*¹⁾ kann man aber bei Urämie daraus keine Schlüsse über den Eiweißgehalt des Blutes ziehen, da Harnstoff und vermutlich auch andere N-haltige Substanzen den Brechungsindex des Blutes zu sehr beeinflussen.

4. Der NaCl-Wert des Blutes stieg bei unseren Tieren in den letzten Tagen ante exitum an, während *Pohl* bei seinen Tieren das Gegenteil feststellte.

Es wurde oben bereits gesagt, daß die Frage, ob das Wesen des *Pohl*schen Krankheitsbildes in der Nierenläsion zu suchen sei oder in einer Schädigung des Gesamtorganismus mit mehr oder weniger starker Beteiligung der Niere, von den Autoren noch offengelassen wurde, daß die meisten jedoch zu der letzteren Auffassung neigen. Unsere eigenen Resultate zwingen nun zu dem Schlusse, daß tatsächlich *die winzige Urmenge extrarenale Veränderungen herbeiführt, die den Eiweißstoffwechsel beschleunigen*. Der Stickstoffgehalt des Blutes steigt erheblich an, obwohl die Tiere infolge der Krankheit weniger Nahrung zu sich nehmen und die Tiere mehr N ausscheiden als in der Vorperiode, d. h. der Eiweißzerfall des Körpers ist gesteigert — dafür spricht auch die rasche Gewichtsabnahme, die nicht nur auf Wasserverlust beruhen kann — und die *Erhöhung des N-Spiegels im Blute ist nicht Folge einer Ausscheidung geringerer N-Mengen als in der Vorperiode, sondern umgekehrt die vermehrte N-Ausscheidung durch die Niere ist Folge des vermehrten Angebotes vom Blute aus*.

Es muß aber noch eine andere tiefgreifende Veränderung im Organismus vor sich gegangen sein. Zu einer Zeit, wo der Bromlaugen-N und der Kochsalzgehalt noch normal sind, gefriert das Blut beim zweiten Tier bei -0.89° , beim dritten Tier bei -0.65° . Es werden also noch andere

¹⁾ Ergebn. d. inn. Med. u. Kinderheilk. 10. 1913.

abnorme, wahrscheinlich nicht N-haltige Stoffwechselprodukte gebildet. Vermutlich hat gleichzeitig die Osmoregulation zwischen Blut und Gewebsflüssigkeit infolge Schädigung der Capillarfunktion gelitten, da sich das Uran ja unter gewissen Bedingungen durch Ekchymosen- und Hydropsiebildung als Capillargift manifestiert.

Wieweit nun die Niere selbst betroffen ist, ob sie tatsächlich, wie *Dünner* vermutet, relativ wenig gelitten hat, ja sogar eine Mehrleistung vollbringt, ließ sich nach den bisher gewonnenen Resultaten nicht beurteilen. *Schlayer*¹⁾, der wohl keine eigenen Versuche hierzu gemacht hat, erwähnt kurz das *Pohl*sche Krankheitsbild. Er scheint seine Symptome lediglich für eine direkte Wirkung des Urans auf die Nieren zu halten. Demgegenüber leiten unsere Blutanalysen zu der Vorstellung, daß die Polyurie sowie die Mehrausfuhr von N und NaCl ein Versuch der Niere sei, das osmotisch konzentriertere und stickstoffreichere Blut auf seinen normalen Status zurückzuführen. Daß die Niere dies nicht zu leisten vermag, daß sie also zumindest für die erhöhten Anforderungen, die die Stoffwechselstörung an sie stellt, insuffizient ist, geht aus dem Mitgeteilten von selbst hervor. Einen richtigen Maßstab für die Beurteilung der Nierenfunktion gibt aber nur ein Vergleich mit der Leistung normaler Nieren. Dieser sollte durch die Funktionsprüfung gewonnen werden, wie sie *Schlayer* in zahlreichen Versuchen an gesunden und nierenkranken Kaninchen ausgearbeitet hat.

Methodik der Funktionsprüfung.

Es wurde die Ausscheidung von Milchzucker, Jodnatrium und Kochsalz geprüft. Alle drei Substanzen wurden intravenös zugeführt. Milchzucker wurde in einer Menge von 1 g in 10 proz. Lösung gegeben, der Harn nach der Injektion zuerst nach 5 Stunden, dann weiter stündlich durch Katheter entnommen und, sobald die Menge ausreichte, der Milchzucker polarimetrisch bestimmt. Wie aus unseren Tabellen und den Untersuchungen *Schlayers* ersichtlich ist, läßt sich schon beim gesunden Kaninchen ein ziemlich beträchtlicher Teil des injizierten Milchzuckers polarimetrisch nicht nachweisen. Dies ist durch die im normalen Kaninchenharn vorhandenen linksdrehenden Substanzen bedingt. *Schlayer* erhielt im Durchschnitt 72% des injizierten Milchzuckers in 6 Stunden, maximal 7½ Stunden wieder.

Für die Beurteilung der Milchzuckerausscheidung des kranken Tieres entstehen erhebliche Schwierigkeiten, *Schlayer* schreibt darüber: „Bei Eiweißgehalt des Urins muß mit einem noch größeren Milchzuckerverlust gerechnet werden, als bei normalem. Denn dabei addiert sich die Wirkung der linksdrehenden Substanzen mit dem durch die Enteiweißung bedingten Verluste.

Da jede einzelne von den stündlich gewonnenen Urinportionen für sich enteiweißt werden mußte, so ging dabei jedesmal etwas Milchzucker verloren. Dazu kommt für jede Portion der Verlust durch die linksdrehenden Substanzen. Beides zusammen führt bei stark eiweißhaltigem Urine zu einem Gesamtverlust bis zu 50–60% der injizierten Menge. Wir mußten uns demnach unter diesen Verhältnissen zufrieden geben, wenn wir von den eingespritzten 100 cg 40–50 wiedererhielten.

¹⁾ Med. Klinik 1914. Beih. 9.

Die Schwierigkeiten, welche daraus erwachsen, sind technisch nicht unbeträglich und erfordern ein sehr sorgfältiges, peinlich genaues Arbeiten. Sie würden vielleicht die Deutung der Resultate unsicher machen können, wenn es lediglich die wiedergewonnene Milchezuckermenge wäre, die ihnen zugrunde liegt. Das ist jedoch keineswegs der Fall. In erster Linie steht, wie schon betont, die *Dauer* der Ausscheidung. Ist sie sicher verlängert, so wird die wiedergewonnene Menge des Zuckers dagegen ganz zurücktreten. Nur wenn die Dauer der Milchezuckerausscheidung normal ist, aber eine abnorm niedrige Menge im Urin wieder erscheint, können Irrtümer entstehen. Der Verlust des Milchezuckers kann in diesem Falle ebensowohl durch die obengenannten Einwirkungen der Enteiweißung und der Linksdrehung zustandekommen, wie dadurch, daß nachträglich noch kleinste, der Analyse nicht mehr zugängliche Milchezuckermengen ausgeschieden werden. So könnte eine verlängerte Milchezuckerausscheidung verdeckt werden. Um uns dagegen zu schützen, haben wir für die Resultate solche Versuche nicht verwertet, sondern nur diejenigen, in denen sich bei normaler Ausscheidungsdauer mindestens 40% wiedergewinnen ließen.“

Nach *Schlayers* Versuchen ist eine Ausscheidungsdauer von 8 bis 10 Stunden immer ein Zeichen für Schädigung der Nierengefäße. — Zur Prüfung der Kochsalzelimination wurden 0,5 g in 10 ccm Aqua dest. intravenös injiziert. Die Jodausscheidung wurde durch Injektion von 1 ccm 2,5 proz. Jodnatriumlösung (= 0,025 g) geprüft. Sie dauerte bei unseren Tieren vor der Vergiftung wesentlich länger als bei *Schlayers* gesunden Kaninchen, der eine Zeit von 24–28 Stunden als normale Ausscheidungsdauer der gleichen Menge Jodkalium angibt. Alle 3 Substanzen können gleichzeitig injiziert werden, ohne sich untereinander zu stören.

Kaninchen 4.

Tabelle III. Täglich 100 g Hafer und 70 g Rüben vorgelegt.

Datum	Gewicht Hafer	Rüben	Harn ccm	Albumen	Sacchar.	NaCl g	Milchezucker-Ausscheidungsdauer u. -menge	Jod	Bemerkungen
17. VI.	2420	50	70	80	—	0,24	9–2 ^h 0,55 g		9 ^h vm. 10 ccm Milchz. 10 proz. intravenös
18. VI.	2400	50	70	130	—	0,52		+ bis 9 ^h abends	11 ¹ 2 ^h vm. 1 ccm NaJ 2,5 proz. intravenös
19. VI.	2425	30	70	100	—	0,40		+ bis 9 ^h abends	
20. VI.	2400	30	70	150	—	0,75		9 ^h vm. +	
21. VI.	2430	40	70		—				
22. VI.	2450	50	70	70	—	0,32			
23. VI.	2400	40	70	50	—	0,84			9 ¹ 2 ^h vm. 5 ccm NaCl 10 proz. intravenös
24. VI.	2400	50	70	25	—	0,10			
25. VI.	2430	50	70	75	—	0,57			
26. VI.	2420	60	70	36	—	0,14			
27. VI.	2460	50	70	30	—	0,36			
28. VI.	2460	70	70	12	—	0,06			

1^h mittags 0,5 ccm 0,07% krystallinisches Urannitrat subcutan.

Tabelle III (Fortsetzung).

Datum	Gewicht	Hafer	Rüben	Harn ccm	Albumen	Sacchar.	NaCl g	Milchzucker-Ausscheidungs-dauer u. -menge	Jod	Bemerkungen
29. VI.	2450	50	70	30	+	—	0,20			
30. VI.	2420	50	70	30	+	Spur	0,11			
1. VII.	2390	30	70	96	+	+	0,31			
2. VII.	2260	40	70	93	+	+	0,41			
3. VII.	2160	20	70	90	+	?	0,50	11—5 ^h 0,41 g		11 ^h vm. 10 ccm Milchz. 10 proz. intravenös 12 ^{1/2} ^h vm. 10 ccm NaCl 5 proz. 8 ^h 50' vm. 1 ccm NaJ 2,5 proz.
4. VII.	2030	25	70	95	+	+	0,38		+	
5. VII.	1960	—	70	100	+	—	0,24		+	
6. VII.	1920	—	70	76	+	—	0,30		+	
7. VII.	1840	—	70	47	+	—	0,24		+ bis 9 ^h abends	
8. VII.	1800	Grünfutt.		64	+	—	0,70		9 ^h vm. + 10 ^h vm. —	
		200								
9. VII.	1810	300		94	—	—	0,11			
10. VII.	1840	300		80	—	—	0,36			
11. VII.	1860	300		30	—	—	0,36			
12. VII.	2020	300 + 50 g Weißbrot		30	—	—				
13. VII.	2170	400 + 50 g Weißbrot		30						
14. VII.	2070	450 + 50 g Weißbrot		110						
15. VII.	2130	450 + 50 g Weißbrot		185						
16. VII.	2060	450 + 50 g Weißbrot		200						
17. VII.	2150	450 + 50 g Weißbrot		250						

Bei diesem Tiere ist die Milchzuckerausscheidung ungestört. Das bedeutet nach *Schlayer*, daß der Glomerulusapparat, dem wir die Stickstoffausscheidung zuschreiben, intakt ist. Von einer typischen Kochsalzausschwemmung kann in unserem Falle nicht gesprochen werden. Die Betrachtung der täglich sezernierten Menge läßt zunächst vermuten, daß eine wesentliche Änderung in der Fähigkeit der Niere zur Kochsalzsekretion nicht eingetreten ist. Die Belastung durch intravenöse Kochsalzzufuhr deckt jedoch eine Funktionsherabsetzung auf: Vor der Vergiftung ein Anstieg von 0,32 g NaCl auf 0,84 am folgenden Tage, nach der Vergiftung von 0,41 auf nur 0,50 g. Im Sinne *Schlayers* bedeutet dies eine Läsion der Tubuli. Die Verzögerung der Jodausscheidung von 45 auf 96 Stunden beweist dasselbe.

Kaninchen 5.

Tabelle IV.

Täglich 100 g Hafer und 80 g Rüben vorgelegt.

Datum	Gewicht	Hafer	Rüben	Harn ccm	Albumen	Sacchar.	NaCl g	Milchzucker- Ausscheidungs- dauer u. -menge	Jod	Bemerkungen
15. IX.	2680	100	80	82	*)	*)	*)	**)		10 ccm Milchzucker 10proz. intravenös
16. IX.	2670	80	80	70	—	—	0,59		+	9 ^h 30' 10 ccm 5proz. NaCl-1 ccm 2,5proz. NaJ intravenös
17. IX.	2710	90	80	78	—	—	0,39		+	
18. IX.	2670	95	80	35	—	—	0,40		+ bis 7 ^h abends	
19. IX.	2680	90	80	20	—	—	0,25		9 ^h vorm. + 10 ^h vm. —	
20. IX.	2730	90	80	78	—	—	?)	9—3 0,9 g		9 ^h vorm. 10 ccm Milchz. 10proz. intravenös
21. IX.	2710	90	80	62	—	—	0,27			
22. IX.	2710	80	80	68	—	—	0,28			
23. IX.	2620	70	80	98	—	—	0,35			
10 ^h vorm. 0,5 ccm 0,07% krystallinisches Urannitrat subcutan										
24. IX.	2550	60	80	38	—	—	****)			
25. IX.	2540	70	80	42	—	—	0,11			
26. IX.	2580	70	80	53	—	—	0,13			
27. IX.	2550	40	80	74	+	—	0,16			
28. IX.	2500	20	80	90	+	+	0,22			
29. IX.	2420	—	80	130	Spur	+	0,73		+	3 ^h nachm. 10 ccm NaCl 5proz. + 1 ccm NaJ 2,5proz. intravenös
30. IX.	2290	—	80	117	„	+	0,58		+	
1. X.	2170	—	80	191	„	—	0,35	9 ^{1/2} —3 ^{1/2} h 0,4 g	+ bis 7 ^h abends	9 ^h 30' vorm. 10 ccm Milchzuck. 10proz. intravenös
2. X.	2000	—	80	53	„	—			+ bis 8 ^h vorm.	
3. X.	1955	—	80	108	—	—	0,06 0,15		9 ^h vorm. —	5 ^h nachm. 10 ccm NaCl 5proz. intravenös
4. X.	1900	—	25	100	—	—	0,15			
5. X.	1800	—	—	60	—	—	—			
Grünfutter vorgelegt, nicht gefressen										
6. X.										morgens tot aufgefunden.

*) Aller Urin zur Milchzuckeranalyse verbraucht, daher nicht untersucht.

**) Bestimmung mißlungen, da Harn auf keine Weise zu klären war.

***) Verloren gegangen.

Dieses Tier scheidet Milchzucker, Kochsalz und Jod während der Krankheit genau so aus wie im gesunden Zustande. Die beiden Versuche sind also nicht gleichsinnig ausgefallen. Dies ist nicht allzu verwunderlich, nachdem *Baehr* in seinen anatomischen Präparaten die größten Unterschiede von kaum nachweisbarer Degeneration bis zu schwerer Nekrose der Tubuli bei gleichem klinischen Verlaufe beobachtet hatte. Für uns bedeutet die Tatsache, daß das letzte Kaninchen ohne nachweisbare Funktionsstörung der Niere bei offenen Harnwegen stirbt, eine weitere Stütze unserer Auffassung von der untergeordneten Bedeutung der Nephritis für die ganze Krankheit.

Eine merkwürdige Beobachtung ist noch zu verzeichnen. In den ersten drei Versuchen hatte sich gezeigt, daß die kranken Tiere Hafer sehr bald ablehnen, dagegen Rüben meist bis zuletzt gierig fressen. Es wurde daher beim vierten Tiere, nachdem das eigentliche Experiment, die Funktionsprüfung, beendet war, der Versuch gemacht, ob durch Nahrungswechsel der Tod hinauszuschieben sei. Am 10. Tage nach der Vergiftung war das Kaninchen nach 640 g Gewichtsverlust schon sehr schwach, zitterte und hielt sich mit Mühe aufrecht, so daß der Tod am selben oder am nächsten Tage erwartet werden konnte. Es erhielt nun Grünfutter und Weißbrot in unbeschränkter Menge vorgelegt. Der Erfolg war überraschend. Nachdem es zunächst nur mühsam etwas gefressen hatte, erholte es sich zusehends von Stunde zu Stunde, so daß man lebhaft an Vitaminexperimente erinnert wurde. Von Tag zu Tag nahm es an Gewicht so rasch zu, wie es vorher abgenommen hatte, und es war bald außer Zweifel, daß die Vergiftung überwunden war. Sehr bald hörte die Polyurie auf, und der Körper begann, das verlorene Wasser einzusparen. Am 14., 15. und 16. Krankheitstage fraß das Tier täglich 450 g Grünfutter und 50 g Weißbrot und lieferte dabei pro die 30 ccm Harn, während es z. B. 2 Tage vor dem Futterwechsel nach nur 60 g Rüben 100 ccm Harn hatte. Am 17. Versuchstage, nachdem der Wasserverlust gedeckt ist, schnellte die Urinmenge plötzlich in die Höhe und beträgt von da ab bei gleicher Nahrung dauernd 100—200 ccm. Das Tier ist jetzt, nach Monaten, noch gesund. Beim letzten Tier sollte dieser Futterversuch wiederholt werden. Damit er recht eindeutig ausfalle, wurde mit der Darreichung des Grünfutters sehr lange gezögert, infolgedessen war das Tier dann schon so schwach, daß es überhaupt nichts mehr fressen konnte. Es starb, ohne die Nahrung berührt zu haben. Selbstverständlich werden die Versuche nach dieser Richtung fortgesetzt.

Die „*Pohlsche* subakute Nephritis“ ist nach unseren Ergebnissen eine Stoffwechselstörung mit starker Anreicherung der Stickstoffschlacken im Blute, während die Nieren unverminderte, meist gesteigerte Stickstoffmengen ausscheiden. Die Nieren sind mitgeschädigt, wie Albuminurie, Cylindrurie und der Ausfall der Funktionsprüfung bei Tier 4 beweisen. Und diese oft viele Wochen dauernde Krankheit wird durch einmalige Injektion der winzigen Menge von 0,35 mg Urannitrat bewirkt. Eine Erklärung über das Wesen der Krankheit geben unsere Versuche nicht, vielmehr entsteht mit der Erkenntnis, daß es sich um eine Stoffwechselkrankheit handelt, erst das Problem, was dem Uran diese enorme Giftigkeit verleiht. Es ist schwer vorstellbar, daß wir es mit der eiweiß-fällenden Wirkung eines Schwermetalles zu tun haben. Das Uran ist

radioaktiv. *Hamburger* und *Brinkmann*¹⁾ haben in Anlehnung an *Zwaardemakers*²⁾ Arbeiten über die biologische Bedeutung der Radioaktivität des Kaliums Versuche über die Zuckerausscheidung der Froschniere angestellt und konnten sie unverändert zuckerdicht, d. h. normal, erhalten, wenn sie in der durchströmenden Ringerlösung das Kalium durch Uran oder andere radioaktive Stoffe in *äquiradioaktiver* Menge ersetzten. Zuviel oder zu wenig Uran machte die Niere sofort zuckerdurchlässig. Sie vermuten daher, die Uranglykosurie sei als Wirkung der Radioaktivität des Urans aufzufassen.

Die Zuckerausscheidung nach Uran ist sehr merkwürdig. Sie trat bei unseren Tieren regelmäßig am 2. bis 3. Tage nach der Vergiftung auf und verschwand nach 3—4 Tagen wieder. Auch *Dünner* beobachtete diese kurzdauernde Glykosurie in der Mehrzahl der Fälle. *Pohl* macht hierüber keine Angaben. Es ist kaum anzunehmen, daß das schnelle Verschwinden der Glykosurie durch einen lokalen Heilungsprozeß in der Niere bedingt ist, während die Allgemeinerkrankung zum Tode führt. Es ist aber auch unwahrscheinlich, daß die fortschreitende Krankheit die Niere zuckerdicht macht, wie dies bei der Cantharidivergiftung bekannt ist, da *Frank* bei seinen mit viel größeren Dosen vergifteten Tieren in der Regel bis zum Exitus Glykosurie feststellte.

Wenn die Annahme *Hamburgers* und *Brinkmanns* richtig ist, daß die Glykosurie durch die Radioaktivität des Urans bedingt ist, so gilt dies vielleicht für das ganze Krankheitsbild. Doch das ist noch unbewiesene Hypothese und soll nur andeuten, in welcher Richtung sich weitere Versuche bewegen. Vielleicht spielt auch die für chemische Reaktionen bekannte katalytische Wirkung des Urans bei der Genese der Krankheit eine Rolle. Einige diesbezügliche Versuche verliefen bisher ergebnislos.

Ein Analogon zu dem beschriebenen Krankheitsbilde kennen wir in der menschlichen Pathologie bisher nicht. Nach dem Ausfall unserer Experimente wird es fraglich, ob wir berechtigt sind, erhöhten Rest-N im Blute Nierenkranker immer nur auf Retention durch die Niere zurückzuführen. Vielleicht kann auch der Mensch von einer Krankheit befallen werden, die klinisch als Nephritis imponiert, aber in Wirklichkeit eine tiefgreifende Stoffwechselstörung des gesamten Organismus ist und zu vermehrter Bildung N-haltiger Produkte im Blute führt.

¹⁾ Diese Zeitschr. 88. 1918.

²⁾ Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 173. 1919.

Über Theobrominausscheidung und Theobromindiurese.

Von
Ludwig Günzburg.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 19. Februar 1922.)

Mit 15 Abbildungen im Text.

1. Methodik der Theobrominbestimmung.

Die Theobrominausscheidung im Harn ist bisher quantitativ nur summarisch verfolgt worden^{1) 2)}. Für die Verfolgung des zeitlichen Verlaufs der Ausscheidung im Harn fehlte es bisher an einer Methode, die gestattete, auch die kleinen Theobrominmengen der Harnportion eines kurzen Zeitintervalls mit hinreichender Genauigkeit in nicht allzu umständlicher Weise zu bestimmen. *Rosts* Methode²⁾ ist zwar zweifellos recht genau und gibt wohl auch noch für wenige Milligramm zuverlässige Werte, ist aber so umständlich, daß sie sich wohl für Theobrominbestimmungen in der Gesamtharnmenge, nicht aber für Einzelbestimmungen etwa in den Stundenportionen eignet.

Da die kürzlich von *Friedberg*³⁾ veröffentlichte biologische Methode zur quantitativen Bestimmung kleinster Coffeinmengen auf der auch dem Theobromin zukommenden Wirkung auf das Muskelplasma beruht, ließ es sich erhoffen, daß sich diese Methode auch für Theobromin würde verwenden lassen. Es zeigte sich aber, daß dies nicht möglich ist. Theobromin ist in allen bekannten Lösungsmitteln sehr schwer löslich, am besten noch in Chloroform (*Rost*, l. c.); doch gelingt es auch mit Chloroform, das Theobromin aus dem getrockneten Harnrückstand quantitativ zu erhalten, nur, wenn man es stundenlang im Soxhlet extrahiert. Hierbei gehen aber doch eine Reihe von anderen als chloroformunlöslich bezeichneten Harnbestandteilen mit in Lösung, und zwar in solcher Menge, daß sie selbst beträchtliche Muskelwirkung hervorrufen. Diese störenden Substanzen gelingt es zwar, mit 1—2 ccm Aqua dest. zum größten Teil zu entfernen (Theobromin ist in dest. Wasser

¹⁾ *Albanese*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **35**, 465.

²⁾ *Rost*, ebenda **36**, 56.

³⁾ *Friedberg*, diese Zeitschr. **118**, 164. 1921.

1 : 3000 löslich, dagegen in der schwach alkalischen Ringerlösung 1 : 200), so daß die dann hergestellte Lösung des Chloroformrückstandes von nicht theobrominhaltigem Harn in Ringerlösung sich an der Froschmuskelfaser als unwirksam oder fast unwirksam erweist; enthält der Harnrückstand aber Theobromin, so wird die Muskelwirksamkeit des Theobromins durch die Spuren der zurückgebliebenen störenden Substanzen so gesteigert, daß man auf ein Vielfaches der wirklich vorhandenen Theobrominmenge schließen müßte. Ein Versuch, mit dieser Methode die Theobrominausscheidungskurve zu bestimmen (Versuch 1), zeigte, daß die Methode zwar den zeitlichen Verlauf der Ausscheidung aufzuklären in der Lage ist, aber daß die absoluten Werte nicht stimmen. die Kurve wohl um ein Vielfaches „überhöht“ ist.

Ich versuchte dann weiter, das Theobromin nach Überführen in Theobrominsilber durch Jodmethyl zu Coffein aufzumethylieren, doch gelang es niemals, mehr als etwa 20% des eingewogenen Theobromins als Coffein wiederzufinden. Hingegen zeigte es sich, daß die Überführung des Theobromins in Theobrominsilber durch AgNO_3 bei ganz schwach ammoniakalischer Reaktion so gut wie vollständig gelang, so daß sich in der Versilberung des Theobromins und der Titration des überschüssigen AgNO_3 nach *Volhard* eine bequeme Methode zur Theobrominbestimmung zu ergeben schien. Die auf diese Überlegung gegründeten Versuche führten auch zum Ziel. Ohne hier auf die einzelnen Schwierigkeiten einzugehen, die sich bei der Ausgestaltung der Methodik noch ergaben, will ich nur noch anführen, in welcher Form ich die Methodik schließlich anwandte.

Der Harn wird stark weinsauer gemacht, mit Gips versetzt und auf dem Wasserbad unter häufigem Umrühren zu einem gleichmäßigen Pulver eingedampft, im Trockenschrank bei ca. 100° 2 Stunden lang getrocknet und dann im Vakuumexsiccator über Schwefelsäure mehrere Stunden stehengelassen. Man erhält hierdurch ein gleichmäßiges, trockenes, stäubendes Pulver¹⁾. Dies Pulver wird dann 2 Stunden lang im Soxhlet mit Chloroform extrahiert, das durch Schütteln mit geglühtem Na_2SO_4 wasserfrei gemacht ist. Oben auf den Kühler setzt man noch ein Chlorcalciumrohr. Bei meiner Versuchsanordnung genügten stets 2 Stunden zur völligen Extraktion (der Soxhlet heberte alle 2—3 Minuten leer), während *Rost* 12 Stunden angibt.

| Nun destilliert man das Chloroform über, verjagt die letzten Spuren Chloroform durch mehrmaliges Abdampfen von einigen Tropfen Petrol-

¹⁾ Es ist sehr wichtig, aus dem Harnrückstand alles Wasser zu entfernen, da sonst bei der Chloroformextraktion zu viel störende Substanzen ins Chloroform gehen, die auch mit AgNO_3 reagieren; man muß daher vor allem genügend Gips zum Harn setzen, sonst erhält man statt eines Pulvers eine zähe Masse.

äther. Der Rückstand besteht aus den Harnfarbstoffen, einigen fetten Substanzen, die zusammen meist den Boden des Rundkölbchens bedecken, während das Theobromin (als freie Base) und die Monomethylxanthine als weiße, krystallinische Substanz gewöhnlich an den Rändern sitzen. Aus der Menge der weißen Krystalle läßt sich gewöhnlich schon ein Rückschluß auf die zu erwartende Theobrominmenge tun.

Den Chloroformrückstand löst man in einigen Kubikzentimetern konzentrierten Ammoniaks (das Theobromin geht hierbei als leichtlösliches Ammoniaksalz in Lösung), füllt mit destilliertem Wasser auf ca. 20 ccm auf und verjagt das überschüssige Ammoniak durch den Luftstrom. (Hierbei entweicht nur das nicht an Theobromin gebundene Ammoniak; bei neutraler oder saurer Reaktion fällt das Theobromin wieder als freie Base aus.) Verjagen des Ammoniaks durch Kochen hat sich mir nicht bewährt.

Ist jeder Ammoniakgeruch verschwunden (bleibt freies Ammoniak in der Lösung, so wird das Theobromin durch AgNO_3 nicht oder nur unvollständig gefällt), führt man quantitativ in ein 50 ccm-Kölbchen über, fügt eine abgemessene Menge $\frac{n}{50}$ - AgNO_3 -Lösung hinzu (meist 10 ccm, nur wenn man mehr als 20–25 mg Theobromin erwartet, 20 ccm), füllt mit Aqua dest. bis zur Marke auf, schüttelt gut durch und läßt etwa 10 Minuten vor Sonnenlicht geschützt stehen. Hierbei setzt sich das Theobrominsilber in groben Flocken langsam ab. Man gießt die überstehende Flüssigkeit durch ein trockenes Filter in ein trockenes Gefäß und gibt erst zum Schluß den Niederschlag dazu (er verstopft die Filterporen stark). Vom Filtrat entnimmt man 2 mal 20 ccm (Doppelbestimmungen). Man fügt als Indikator Eisenammoniakalaunlösung hinzu, wodurch die vorher nahezu farblose Lösung (die Harnfarbstoffe werden größtenteils vom Niederschlag und Filter adsorbiert) tiefblau oder violett gefärbt wird (komplexe Eisenverbindung), wenn tatsächlich alles freie Ammoniak verjagt war. Befand sich dagegen freies Ammoniak in der Lösung, so bildet sich (daneben oder ausschließlich) ein rotbrauner Niederschlag von Eisenhydroxyd. Dann ist aber sicher nicht alles Theobromin ausgefällt, und die Bestimmung ist zu verwerfen.

Man fügt so lange starke HNO_3 hinzu, bis die Lösung wieder farblos geworden ist, und titriert mit $\frac{n}{50}$ - $\text{NH}_4(\text{CNS})$ -Lösung (Mikrobürette) unter fortwährendem Umschütteln bis zur bleibenden Rotfärbung.

Zur Berechnung multipliziert man die verbrauchten Kubikzentimeter Rhodanlösung mit $\frac{5}{2}$ (da von 50 ccm je 20 zur Titration verwandt wurden) und zieht von der vorgelegten Menge AgNO_3 bzw. deren Titer ab. Jeder Kubikzentimeter AgNO_3 -Lösung entspricht 3,60 mg Theobromin.

Die Methode ist wesentlich einfacher als die von *Rost* verwandte, dafür aber lange nicht so genau (Fehlergrenze bei Theobrominmengen von über 10 mg ca. + 20%), doch völlig genügend, um für biologische Zwecke die Größenordnung der Theobrominausscheidung zu bestimmen. Allerdings muß man sich dabei vor Augen halten, daß die Methode um so ungenauer wird, je geringer die vorhandene Theobrominmenge ist. Sind nur Spuren von Theobromin im Chloroformrückstand, oder fehlt es ganz, so nähert sich nach dem Vertreiben des überschüssigen Ammoniaks die Reaktion der Lösung so sehr dem Neutralpunkt, daß noch alle möglichen anderen Substanzen (z. B. Halogenide), die bei der intensiven Soxlethextraktion in Spuren mit ins Chloroform gehen, mit AgNO_3 reagieren und so einen Theobromingehalt vortäuschen. Mehrere Leerversuche ergaben einen scheinbaren Theobromingehalt bis zu 7 mg in 70--100 ccm Harn, so daß also Werte bis zu 7 oder 8 mg praktisch zu vernachlässigen sind. „Purinbasen“ (Monomethylxanthine) werden dagegen bei der hier gewählten Versuchsanordnung höchstens in Spuren mitbestimmt. (Der in HNO_3 gelöste Niederschlag des „Theobrominsilbers“ gab, stark ammoniakalisch gemacht, keinen sichtbaren Niederschlag mit AgNO_3 und keinen titrierbaren Verlust an AgNO_3 .)

2. Der zeitliche Verlauf der Theobrominausscheidung.

Die hier folgenden Experimente wurden unter Abstinenz von Kakao, Kaffee und stärkerem Tee an mir selbst ausgeführt, der Harn stündlich aufgefangen. Ich verzichte hier wie auch im folgenden aus Gründen der Raumersparnis auf die ausführliche Mitteilung der Versuchsprotokolle, gebe vielmehr nur die Versuchsergebnisse in Form von Tabellen oder Abbildungen.

Versuch 1. 16. X. 1921. Warmes, sonniges Wetter. 9³⁰ vorm. 0,80 Diuretin per os.

Stunde nach Theobromineinnahme	Harnmenge ccm	Theobrominmenge mg
1. Stunde	22	1,8 mg
2. „	30	22 „
3. „	54	?) „
4. „	72	95 „
5. „	70	?) „
6. „	54	1,25 „
7. „	43	1,25 „
8. „	30	1,5 „

*) Die Theobrominextraktionen der 3. und 5. Harnportion sind mißglückt.

Biologische Methode mit Hilfe der isolierten Sartoriusfasern der *Rana temporaria*.

Versuch 2 (Abb. 1). 4. XI. 1921. Feucht, neblig, kühl. 8^h 05' vorm. 0,80 Diuretin per os.

Stunde nach Theobromineinnahme	Ausscheidungszeit	Harnmenge ccm	Reaktion gegen Lackmus	Theobromin	
				in der Stunde	in 100 ccm
—	7 ^h 5'—8 ^h 5'	36	stark sauer	—	—
1. Stunde	8 ^h 5'—9 ^h 5'	42	schwach sauer	?	?
2. "	9 ^h 5'—10 ^h 5'	93	" alkal.	9 mg	9,6 mg
3. "	10 ^h 5'—11 ^h 5'	86	alkalisch	31,5 "	36,7 "
4. "	11 ^h 5'—12 ^h 5'	62	schwach alkal.	10,6 "	17,1 "
5. "	12 ^h 5'—1 ^h 5'	72	" sauer	?	?
6. "	1 ^h 5'—2 ^h 5'	68	" sauer	10,6 "	15,6 "
9. "	4 ^h 5'—5 ^h 5'	68	" sauer	3,6 "	5,3 "
10. "	5 ^h 5'—6 ^h 5'	60	stark sauer	2,7 "	4,5 "

Hier wie stets später Titration der überschüssigen AgNO₃ zur Theobrominbestimmung.

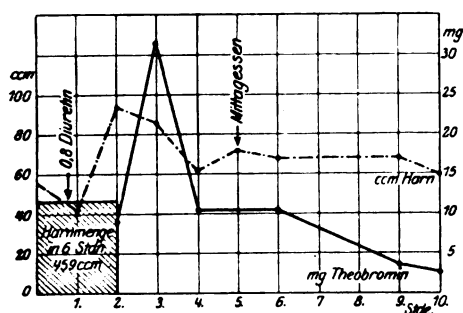


Abb. 1. Versuch 2.

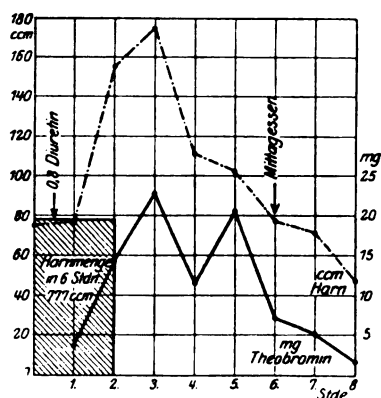


Abb. 2. Versuch 3.

Versuch 3. 9. XI. 1921. Kalt, Schneefall, später klar. (Abb. 2.)
8^h 10' vorm. 0,80 Diuretin per os.

Stunde nach Theobromineinnahme	Ausscheidungszeit	Harnmenge ccm	Reaktion gegen Lackmus	Theobromin	
				in der Stunde	in 100 ccm
—	7 ^h 10'—8 ^h 10'	75	stark sauer	—	—
1. Stunde	8 ^h 10'—9 ^h 10'	78	mäßig sauer	4,1 mg	5,3 mg
2. "	9 ^h 10'—10 ^h 10'	156	schwach sauer	14,6 "	9,4 "
3. "	10 ^h 10'—11 ^h 10'	175	" "	23,2 "	13,8 "
4. "	11 ^h 10'—12 ^h 10'	112	" "	11,9 "	10,6 "
5. "	12 ^h 10'—1 ^h 10'	103	mäßig sauer	20,9 "	20,3 "
6. "	1 ^h 10'—2 ^h 10'	78	stark sauer	7,2 "	9,1 "
7. "	2 ^h 10'—3 ^h 10'	72	" "	5,4 "	7,5 "
8. "	3 ^h 10'—4 ^h 10'	48	alkalisch	2,0 "	4,2 "

Von den 3 hier angeführten Versuchen kann Versuch 1 nur für den zeitlichen Ablauf der Theobrominausscheidung herangezogen werden. Wie aus den Versuchen hervorgeht, ist die Theobrominausscheidung

in der 1. Stunde nach der Einnahme noch sehr gering, was wohl mit den Resorptionsverhältnissen zusammenhängt, steigt dann schnell an, um bei der hier gewählten Dosis von 0,8 Diuretin (entsprechend 0,4 Theobromin) etwa in der 3. Stunde ihr Maximum zu erreichen und relativ schnell wieder abzufallen, so daß nach der 6. Stunde nach der Einnahme die Ausscheidung nur noch unbedeutend ist.

Was die absoluten Mengen der Theobrominausscheidung betrifft, so sind kleinere Mengen als 7 mg überhaupt zweifelhaft in ihrer Bedeutung (s. oben).

Das Maximum, das in Versuch 2 31,5 mg in der Stundenportion beträgt, ist recht hoch, wenn man bedenkt, daß dies einer Theobrominkonzentration von 1 : 2730 entspricht, während die Löslichkeit des Theobromins in Aqua dest. nur 1 : 3000 beträgt.

Neben dieser Übereinstimmung in der Ausscheidungskurve finden sich aber auch beträchtliche Verschiedenheiten. Trotz sonst völlig gleicher Versuchsbedingungen und annähernd gleicher Temperaturverhältnisse ist die Diurese in Versuch 2 (wie auch in Versuch 1) nur eben angedeutet, dagegen in Versuch 3 kräftig, während die Ausscheidungskurve des Theobromins in Versuch 2 relativ steil, mit hohem Maximum, in Versuch 3 trotz der beträchtlichen Diurese die Ausscheidung schleppend, länger hingezogen, mit niedrigerem Maximum ist. Außerdem beobachtete ich an Versuch 2, daß auf der Höhe von Theobrominausscheidung und Diurese der vorher stark saure Harn lackmusalkalisch wurde, während in Versuch 3 die saure Reaktion des Harns nur geringer wurde. Da Theobromin in sauren Flüssigkeiten von der hier in Betracht kommenden H-Ionenkonzentration — (H^+) — viel schwerer löslich ist als in alkalischen, konnte hier eine für die diuretische Wirkung des Theobromins bedeutsame Tatsache vorliegen.

3. Theobromindiurese und Harnreaktion.

Schon *Falck*¹⁾ beobachtete gelegentlich, daß während der durch NaCl-Zufuhr erzeugten Diurese der Harn alkalisch wurde. *Rüdel*²⁾ prüfte dann eine Reihe von diuretisch wirksamen Substanzen beim Kaninchen und Hund auf ihre Fähigkeit, den vorher sauren Harn alkalisch zu machen. Seine hierzu verwandte Methode, nämlich direkte Titration des Harns mit Lauge bzw. Säure gegen Lackmuspapier, gibt aber nach unserm heutigen Wissen keinen Aufschluß über die aktuelle (H^+). Auch hat er die Beziehungen zum Eintreten oder Nichteintreten der Diurese nicht berücksichtigt. Es erschien daher angezeigt, die Einwirkung der Theobrominzufuhr auf die Harnreaktion und deren Beziehungen zur Theobromindiurese mit einer unserer modernen Methoden der (H^+)-Bestimmung zu untersuchen. Da die Ausschläge in der Harnreaktion sehr beträchtliche sind und es also nicht auf sehr große Genauigkeit ankommt, benutzte ich die *Michaelis*sche Indicatorenmethode

¹⁾ Virchows Arch. f. pathol. Anat. u. Physiol. **56**, 315.

²⁾ Arch. f. exper. Pathol. u. Therap. **30**, 41.

ohne Puffer mit dem *Walpoleschen* Prinzip in der von ihm kürzlich veröffentlichten vereinfachten Form¹⁾.

Das Verhalten der (H') im Harn ohne Theobrominzufuhr zeigen die Versuche 4 und 5 (Selbstversuche).

Versuch 4 (Abb. 3).
23. XI. 1921. Kalt, neblig.

Versuch 5 (Abb. 4).
25. XI. 1921. Kalt, neblig.
9h 45' vorm. 400 ccm
Wasser.

Versuch 22 (Abb. 5).
Selbstversuch. 14. XII.
1921. Sehr kalt.

9h 45' vorm. 0,4 Theobrominum purum.

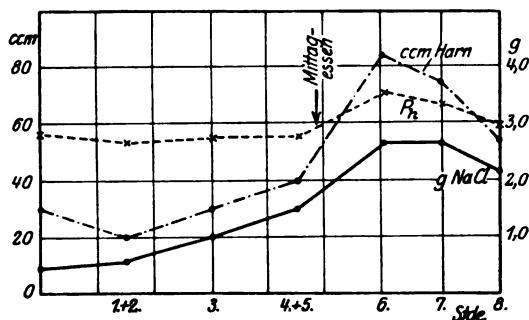


Abb. 8. Versuch 4.

Versuch 4 zeigt, daß die (H'), hier wie auch stets später als $p_H = -\log (H')$ berechnet, ohne Änderung der äußeren Umstände konstant bleibt. Sie blieb hier den ganzen Vormittag konstant, nach dem Mittagessen die bekannte alkalische Harnreaktion auf der Höhe der Salzsäureabscheidung. Versuch 5 zeigt, daß nicht jede Diurese die (H') im Harn

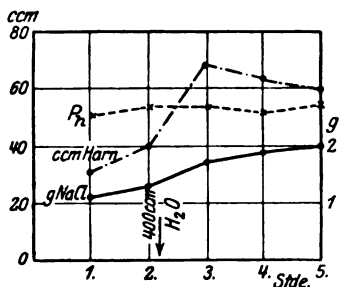


Abb. 4. Versuch 5.

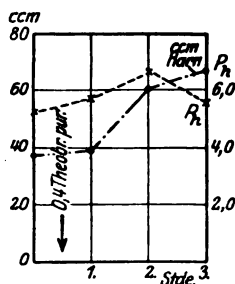


Abb. 5. Versuch 22.

ändert. Diurese durch Wasserzufuhr läßt sie unverändert. Versuch 22 zeigt die Änderung der Harnreaktion durch Theobrominzufuhr. Die p_H im Harn steigt, obwohl keine deutliche Diurese eintritt. Dieselbe Kurve für p_H zeigt der auf S. 559 abgedruckte Versuch 20. Aus den auf S. 557 und S. 560 abgedruckten Versuchen 7 und 18 geht hervor, daß auch bei gleichzeitiger Säurezufuhr der Harn die Tendenz hat, auf der Höhe der Theobrominausscheidung alkalischer zu werden.

¹⁾ Dtsch. med. Wochenschr. 1921, Nr. 17, S. 465. Vgl. hierzu auch *Michaelis*, Kleines Praktikum der physikalischen Chemie. Springer. 1921.

Versuch 6 (Abb. 6). 28. XI. 1921. Sehr kalt, neblig. (Selbstversuch.)

8h 20' vorm. 0,800 g Diuretin + 1,00 g NaHCO_3
 10h 20' " " 1,00 " "
 12h 20' " " 1,00 " "

Portion	Zeit	Harn- menge ccm	pH	NaCl		Theobromin	
				in 100 ccm	absolut	absolut	in 100 ccm
—	7h 20' — 8h 20'	28	5,0	38,61 mg	1,081 g	—	—
1	8h 20' — 9h 20'	27	5,2	35,69 "	0,963 "	10,2 mg	37,6 mg
2	9h 20' — 10h 20'	39	6,8	38,03 "	1,483 "	25,2 "	64,0 "
3	10h 20' — 11h 20'	70	7,1	31,01 "	2,170 "	24,5 "	35,0 "
4	11h 20' — 12h 20'	45	6,8	31,59 "	1,422 "	16,3 "	36,2 "
5	12h 20' — 1h 20'	25	6,9	31,59 "	0,790 "	14,3 "	57,2 "
6 u. 7	1h 20' — 3h 20'	45	7,0	23,57 "	1,061 "	13,5 "	30,0 "
8	3h 20' — 4h 20'	27	7,0	20,48 "	0,553 "	8,7 "	32,2 "
Gesamtmenge		311	—		9,523 "	112,7 "	

Protokoll zu Versuch 7 s. folgende Seite.

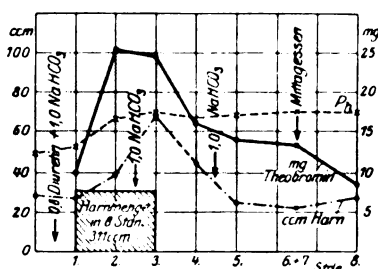


Abb. 6. Versuch 6.

Diese beiden Versuche zeigen, daß durch gleichzeitige Alkalizufuhr die Theobromindiurese nahezu unterdrückt, durch gleichzeitige Säurezufuhr enorm gesteigert werden kann. Die Kurve der Theobrominausscheidung entspricht in Versuch 6 etwa der in Versuch 2, in Versuch 7 etwa der in Versuch 3. Die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Theobromins ist überall etwa dieselbe. Die Kochsalzausscheidung verläuft demgegenüber der Diurese parallel.

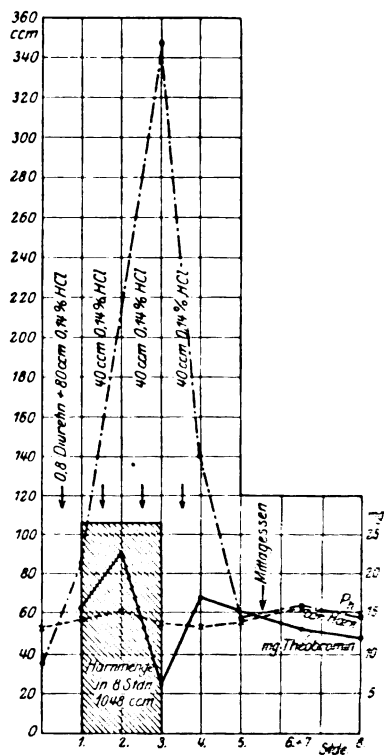


Abb. 7. Versuch 7.

*Versuch 7 (Abb. 7). 2. XII 1921. Sehr kalt, neblig. Selbstversuch.*8^h 05' vorm. 0,8 Diuretin + 80 ccm 0,14proz. HCl9^h 15' " 40 " " "10^h 15' " 40 " " "11^h 15' " 40 " " "

Portion	Zeit	Harn- menge ccm	pH	NaCl		Theobromin	
				in 100 ccm	absolut	absolut	in 100 ccm
—	7 ^h 15'—8 ^h 5'	34	5,4	35,1 mg	1,198 g	—	—
1	8 ^h 5'—9 ^h 5'	86	5,8	30,4 "	2,616 "	16,03 mg	18,6 mg
2	9 ^h 5'—10 ^h 5'	210	6,2	16,4 "	3,440 "	22,7 "	10,8 "
3	10 ^h 5'—11 ^h 5'	346	5,5	9,95 "	3,441 "	6,4 "	1,85 "
4	11 ^h 5'—12 ^h 5'	127	5,4	20,5 "	2,600 "	17,2 "	13,5 "
5	12 ^h 5'—1 ^h 5'	58	5,7	29,84 "	1,730 "	15,4 "	?
6 u. 7	1 ^h 5'—3 ^h 5'	126	6,3	29,84 "	3,759 "	26,5 mg	21,0 "
8	3 ^h 5'—4 ^h 5'	61	6,2	29,25 "	1,784 "	9,6 "	15,7 "
Gesamtmenge		1048	—	—	20,569 "	113,8 "	—

*Versuch 8. Dr. P. 1. XII. 1921. Kalt, neblig.*8^h 30' = 0,8 Diuretin + 1,0 NaHCO₃10^h 30' = 1,0 "12^h 30' = 1,0 "

Portion	Zeit	Menge	pH	Bemerkungen
1	8 ^h 30'—9 ^h 30'	44 ccm	5,7	NaCl gesamt = 7,234 g pro ccm = 0,0158 " Theobrom. a = 96,9 mg in 8 ^h " b = 88,6 " " 8 ^h Durchschnitt = 92,7 "
2	9 ^h 30'—10 ^h 30'	44 "	6,8	
3	10 ^h 30'—11 ^h 30'	50 "	7,1	
4	11 ^h 30'—12 ^h 55'	74 "	7,0	
		1 ^h 45' Mittagessen 2 ^h 45' Kaffee		
5 u. 6	12 ^h 55'—2 ^h 45'	108 ccm	7,1	
7 u. 8	2 ^h 45'—4 ^h 45'	138 "	7,2	
Gesamtmenge		458 "	—	

*Versuch 9. Dr. P. 5. XII. 1921. Kalt, neblig.*9^h = 0,8 Diuretin + 20 Tropfen verd. HCl10^h = 20 " " "11^h = 20 " " "

Portion	Zeit	Menge	pH	Remerkungen
—	9 ^h	—	5,3	NaCl gesamt 11,151 g in ccm 0,0287 " Theobromin 68,3 mg
1	9 ^h —10 ^h	30 ccm	5,1	
2	10 ^h —11 ^h	30 "	5,3	
3	11 ^h —12 ^h 15'	39 "	5,4	
4—6	12 ^h 15'—2 ^h 40'	147 "	5,3	
7 u. 8	2 ^h 40'—5 ^h	143 "	?	
Gesamtmenge		389 "	—	

Hier finden wir also bei einer Dosis, die bei mir wirksam war, weder bei gleichzeitiger Alkali- noch bei gleichzeitiger Säurezufuhr eine Diurese. Da es sich um eine an sehr starken Coffeingenuß gewöhnte Versuchsperson handelte, steigerte ich die Theobromindosis.

Versuch 16. (Abb. 8). Dr. P. 12. XII. 1921. Warm, neblig.

8h 45' 1,2 Diuretin + 20 Tropfen HCl
9h 45' 10 " "
10h 45' 10 " "

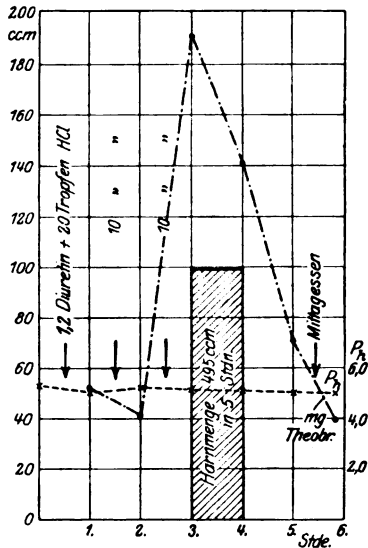


Abb. 8. Versuch 16.

Versuch 17 (Abb. 9). Dr. P. 14. XII. 1921.

8h 10' 2,0 NaHCO₃ 8h 30' 1,2 Diuretin
10h 10' 2,0 " "
12h 10' 2,0 " "

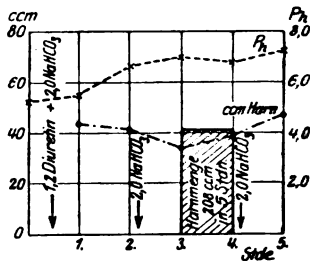


Abb. 9. Versuch 17.

Bei der hier angewendeten Dosis von 1,2 Diuretin finden wir bei gleichzeitiger Alkalizufuhr keine Spur von Diurese, bei gleichzeitiger Säurezufuhr deutliche Diurese.

Versuch 14. Dr. V. 9. XII. 1921. Trüb, Föhn, Regen.

8h 00' 25 Tropfen HCl
8h 10' 0,8 Diuretin

Portion	Zeit	Menge	pH	Bemerkungen
1	8h 20' - 9h 20'	110 ccm	6,0	Ausgeschiedene Theobrominmenge gesamt 134,2 mg
2	9h 20' - 10h 20'	106 "	5,5	
3	10h 20' - 11h 20'	200 "	6,3	
4	11h 20' - 12h	116 "	6,2	
5	12h - 1h	110 "	6,4	
6	1h - 2h	74 "	6,2	
7	2h - 3h	80 "	6,2	
8	3h - 4h	80 "	6,7	
Gesamtmenge.		876 "	—	

Versuch 15. Dr. V. 10. XII. 1921.

7^h 45' 2 g NaHCO₃ 8^h 15' 0,8 Diuretin
9^h 30' 2 „ „

Portion	Zeit	Menge	pH
1	8 ^h 15'—9 ^h 15'	126 ccm	6,2
2	9 ^h 15'—10 ^h 15'	154 „	5,3
3	10 ^h 15'—11 ^h 15'	80 „	7,1
4	11 ^h 15'—12 ^h 15'	178 „	7,1
5	12 ^h 15'—1 ^h 15'	150 „	7,1

Auch hier starker Coffeingenuß, keine deutliche diuretische Wirkung.

Versuch 20. Dr. V. (Abb. 10). 13. XII. 1921. Mäßig kalt.

8^h 15' Theobrominum purum 0,6.

Versuch 21. Dr. V. (Abb. 11.) 14. XII. 1921. Sehr kalt.

8^h 15' 25 Tropfen HCl

8^h 30' Theobrominum pur. 0,6

10^h 00' 10 Tropfen HCl.

Erhöhte Dose. Nun bei gleichzeitiger Säurezufuhr deutliche Diurese.

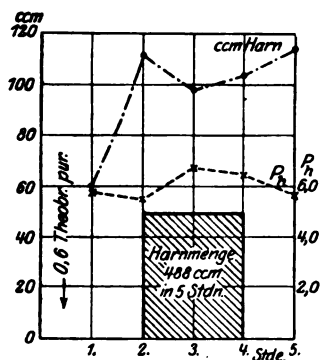


Abb. 10. Versuch 20.

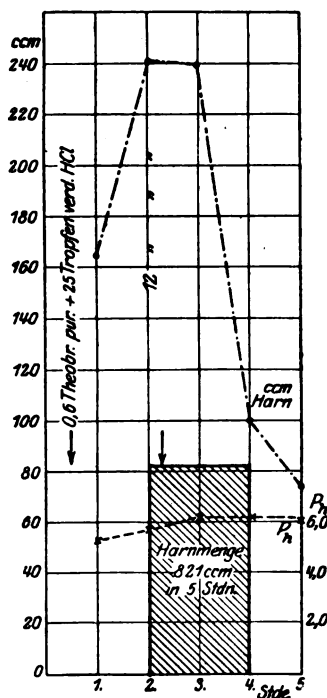


Abb. 11. Versuch 21.

Versuch 11. G. G. (Abb. 12.) 6. XII. 1921. Kalt, klar.

9^h 0,8 Diuretin + 2,0 NaHCO₃

10^h 2,0 „

11^h 2,0 „

Ausgeschiedene Theobrominmenge gesamt 93,5 mg.

Versuch 12. G. G. (Abb. 13.) 7. XII. 1921. Kalt, klar.

9^h 15' 20 Tropfen HCl

11^h 30' 10 Tropfen HCl

9^h 30' 0,8 Diuretin

12^h 30' 10 „ „

10^h 30' 10 Tropfen HCl

Ausgeschiedene Theobrominmenge gesamt 116,9 mg.

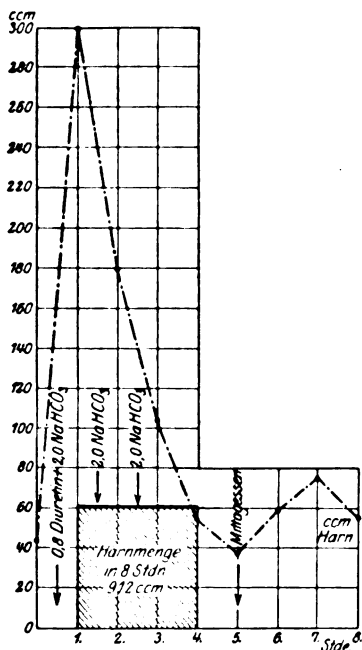


Abb. 12. Versuch 11.

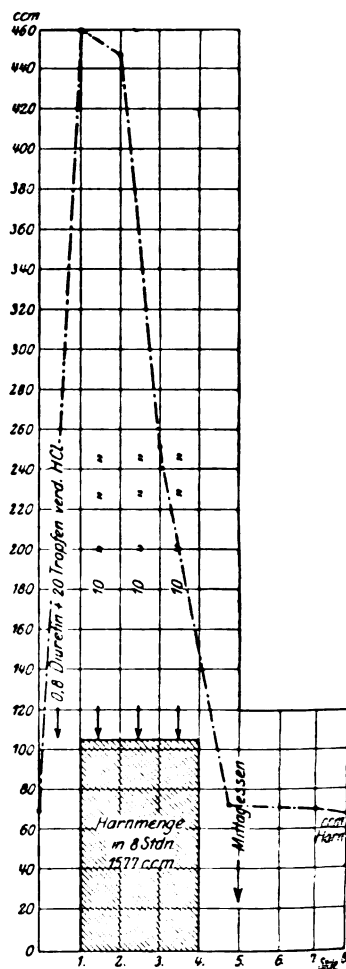


Abb. 18. Versuch 12.

Keine Coffeingewöhnung. Bei Alkalizufuhr starke, bei Säurezufuhr außerordentlich starke Diurese.

Versuch 18 (Abb. 14). Dr. O. 13. XII. 1921. Mäßig kalt.

8^h 30' 25 Tropfen HCl
 8^h 40' 1,0 Diuretin
 9^h 40' 10 Tropfen HCl
 11^h 40' 10 " "

Versuch 19 (Abb. 15). Dr. O. 14. XII. 1921. Sehr kalt.

8^h 20' 2,0 NaHCO₃
 8^h 50' 1,0 Diuretin
 10^h 20' 2,0 NaHCO₃
 11^h 45' 2,0 " "

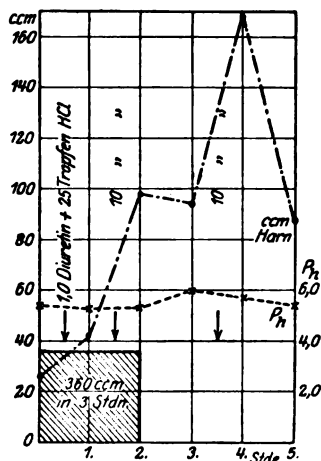


Abb. 14. Versuch 18.

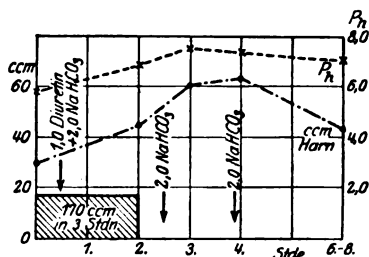


Abb. 15. Versuch 19.

Mäßige Coffeingewöhnung. Auf Alkali keine, auf Säure deutliche Diurese.

Also überall bei gleichzeitiger Säurezufuhr erhöhte Diurese gegenüber gleichzeitiger Alkalizufuhr.

Auch erhellt aus den letzten Versuchspaaren der Einfluß der Coffeingewöhnung auf die Theobromindiurese: Bei chronischem Coffeingenuß sind erhöhte Theobromindosen zur Erzeugung der Diurese notwendig.

Die Gesamtmenge des ausgeschiedenen Theobromins liegt in allen Versuchen zwischen 17 und 33% der eingenommenen Menge, meist zwischen 20 und 25%. Das stimmt vollkommen mit den Resultaten von *Rost* überein.

Versuch 13. Selbstversuch. 7. XII. 1921.

8h 40' 1 ccm Acid. hydrochl. dil.

Portion	Zeit	Menge	pH
—	8h 30'—9h 25'	69 ccm	6,9
1	9h 25'—10h 25'	188 „	6,4
2	10h 25'—11h 25'	165 „	6,5
3	11h 25'—12h 25'	71 „	6,0
4	12h 25'—1h 5'	48 „	5,4

Versuch 23. Dr. V. 15. XII. 1921.

8h 30' 25 Tropfen HCl.

Portion	Zeit	Menge	pH
1	8h 30'—9h 30'	44 ccm	5,1
2	9h 30'—10h 30'	27 „	5,3
3	10h 30'—11h 40'	76 „	6,4

Säure allein macht keine sichere Diurese.

Zusammenfassung.

1. Es wird eine neue Methode zur Bestimmung des Theobromins in kleinen Mengen beschrieben. Sie besteht beim Harn in dessen Trocknung mit Gips, Extraktion mit Chloroform, Fällung der ganz schwach ammoniakalischen Lösung des Chloroformrückstandes mit AgNO_3 und Titration des AgNO_3 -Verlusts nach *Volhard*.

2. Die mit dieser Methode zeitlich verfolgte Theobrominausscheidung beim Menschen ergibt eine charakteristische Kurve mit schnellem Anstieg, Maximum in der 2. oder 3. Stunde nach der Theobromineinnahme und mäßig schnellem Abfall, der bis zur 7. Stunde im wesentlichen abgeschlossen ist. Diese Kurve ergibt sich auch, wenn die Diurese ausbleibt.

3. Während des Maximums der Theobrominausscheidung wird der Harn meist alkalisch oder schwächer sauer.

4. Die Theobromindiurese läßt sich durch gleichzeitige Alkalizufuhr wesentlich einschränken, durch gleichzeitige Säurezufuhr verstärken.

5. Chronischer Coffeingenuß vermindert die Empfindlichkeit gegen Theobromin, so daß zur Erzielung der diuretischen Wirkung höhere Dosen gegeben werden müssen.

Über die Coffeinausscheidung im Harn nach dem Tee- und Kaffeetrinken beim Menschen.

Von

Kwanichiro Okushima.

(Aus dem pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 19. Februar 1922.)

Mit 6 Abbildungen im Text.

Nachdem *Friedberg*¹⁾ eine neue Methode zur Bestimmung der kleinen Mengen Coffein im Harn gefunden hat, ist es ermöglicht, den genauen Verlauf der Coffeinausscheidung und andere verschiedene Fragen über die Beziehung von Diurese und ausgeschiedenen Mengen des Coffeins und über die Coffeingewöhnung zu untersuchen, indem man den Coffeingehalt der stündlichen Harnmengen bestimmt, was man bei den bisherigen Methoden²⁾ nicht feststellen konnte. Denn bei den letzteren war die Bestimmung nur möglich in großen Quanten von Mischharn aus längeren Perioden. Die neue Methode besteht in der Extraktion des Coffeins aus dem Harn und in dessen quantitativer pharmakologischer Bestimmung³⁾ am Skelettmuskel des Frosches. *Friedberg* hat mit dieser Methode den stündlichen Verlauf der Coffeinausscheidung im Harn nach der Aufnahme des reinen Coffeins und des Kaffees, nach subcutaner Injektion des Coffeino-Natrium benzoicum sowie nach dem Rauchen des coffeinhaltigen Tabaks und der Zigarren untersucht und die obengenannten verschiedenen Fragen aufgeklärt.

In vorliegender Arbeit habe ich mit derselben Methode die Coffeinausscheidung nach der Aufnahme des Tees untersucht. Da meine Resultate von denen *Friedbergs* beim Kaffeeversuche etwas abweichen, ich aber nicht annehmen kann, daß bei Kaffee- und Teetrinken prinzipiell abweichende Bedingungen der Resorption oder der Ausscheidung von Coffein stattfinden, so scheint es möglich, formale Verschiedenheiten der Zusammensetzung des Kaffee- bzw. Teeaufgusses eine Rolle spielen

¹⁾ *Friedberg*, Diese Zeitschr. **118**, 164. 1921.

²⁾ Über die bisherigen Methoden vgl. *Friedberg*.

³⁾ Das ist eine modifizierte Methode von derjenigen, die schon *H. Fühner* zum qualitativen Nachweis von Coffein angegeben hat (Nachweis und Bestimmung von Giften auf biologischem Wege. 1911, S. 116).

können. Daher habe ich mir die Aufgabe gestellt, die Resultate beim Tee- und Kaffeetrinken zu vergleichen. Im zweiten Teil habe ich an anderen Personen, einem Japaner und einem Europäer, die Versuche angestellt, um zu sehen, ob der Verlauf der Coffeinausscheidung bei verschiedenen Rassen verschieden ist.

Außerdem will ich bei der Durchführung dieser Arbeit auf einige Punkte aufmerksam machen, die bisher nicht genügend beachtet worden sind.

Methodisches.

Die Muskelfaser ist nicht immer gleich empfindlich gegen Coffeinelösung. Die Grenzkonzentration, die noch eine Muskelreaktion erregt, schwankt unter dem Einfluß von verschiedenen Faktoren zwischen 1 : 2000 und 1 : 6000, obwohl dieselbe in den meisten Fällen für eine gewisse Zeit nach der Präparation eine Stärke zwischen 1 : 3000 und 1 : 4000 hat. In kälterer Jahreszeit reagiert die Faser im allgemeinen intensiver als in wärmerer. Noch wichtiger ist aber der Einfluß, der durch die jeweilige Verschiedenheit im Zustande des Muskels bedingt ist. Sogar bei demselben Muskel variiert die Empfindlichkeit im Ablauf der Zeit nach dem Ausschneiden, selbst wenn der Muskel vorsichtig in einer feuchten Kammer aufbewahrt wird. Diese Veränderung vollzieht sich bei warmem Wetter schneller als bei kühlem. Dabei wird in einigen der Muskel zuerst empfindlicher als er vorher gewesen ist, und dann unempfindlich. In anderen Fällen wird er gleich unempfindlich. Da diese Veränderung sich manchmal sehr rasch vollzogen hat, so wurde ich gezwungen, die Wirkungsstärke der zu prüfenden Lösung mit der der bekannten Coffeinelösung möglichst gleichzeitig zu vergleichen. Andernfalls bin ich zu falschen Resultaten gekommen.

Friedberg hat die Grenzkonzentration des Coffeins 1 : 3500 bestimmt und hat bei allen Versuchen aus dieser Verhältniszahl und aus der gefundenen Grenzkonzentration der zu prüfenden Lösung den Coffeingehalt berechnet. Da die Grenzkonzentration aber nicht immer dieselbe ist, so kann der Coffeingehalt auf diese Weise mit diesem Durchschnittswert für meine Frage nicht genau genug bestimmt werden.

Die Extraktionsmethode des Coffeins wurde auch durch Anregung von Herrn Prof. *Straub* etwas modifiziert. Während früher der pulvertrockne Harn zuerst in Petroläther gekocht wurde, wird nunmehr dem Destillationsrückstand des Chloroformextraktes Petroläther zugegeben und etwas erwärmt. Dies geschieht, um letzte Reste von Chloroform zu entfernen, die geeignet sind, die Froschreaktion zu stören, da Chloroform selbst auf die Muskelfaser coffeinähnlich wirkt. Nach der Abkühlung wird der Petroläther abgegossen und der Rückstand wird im Vakuum getrocknet. Dadurch wird nebenbei der letzte Rest von Fett entfernt und der Rückstand ganz wasserlöslich. In den abgegossenen Petroläther geht kein Coffein über. Es trat aber manchmal der Fall ein, daß der Chloroformrückstand nicht ganz fest an dem Glas saß und daß es nicht ausgeschlossen war, daß er durch den Petroläther mechanisch abgewaschen wurde. In diesem Falle verjagte ich den Petroläther aus der Flasche im Luftstrom. Dadurch kann man zwar das Fett von dem Rückstand nicht trennen, wohl aber das Chloroform mit verjagen, das im Fett in kleinen Mengen enthalten ist und das nach dem Lösen in Ringerlösung auf den Muskel coffeinartig wirken kann.

Versuch 1. Selbstversuch. 400 ccm Tee, dessen Coffeingehalt nach dieser Methode bestimmt wurde und 68 mg betrug, wurde beim Frühstück um 8^h 50' eingenommen. Harnportion stündlich.

	Harnmenge		Coffein ¹⁾	Bemerkungen
1.	8 ^h 50'—9 ^h 50'	121 ccm	0,46 mg	Schönes Wetter, Luft trocken, warm.
2.	9 ^h 50'—10 ^h 50'	135 ccm	1,65 mg	Angeregt.
3.	10 ^h 50'—11 ^h 50'	81 ccm	2,0 mg	
4.	11 ^h 50'—12 ^h 50'	41 ccm	1,32 mg	1 ^h 30'—1 ^h 50' Mittagessen.
5.	12 ^h 50'—1 ^h 50'	96 ccm	0,8 mg	Gewitter, kühl.
6.	1 ^h 50'—2 ^h 50'	135 ccm	1,25 mg	
7.	2 ^h 50'—3 ^h 50'	85 ccm	1,2 mg	
8.	3 ^h 50'—4 ^h 50'	61 ccm	0,55 mg	
9.	4 ^h 50'—5 ^h 50'	48 ccm	0,6 mg	
10.	5 ^h 50'—6 ^h 50'	91 ccm	0,68 mg	Sehr kühl, sehr feuchte Luft.
			Summe 10,61 mg = 15,6%.	

Wenn ich diese Resultate in einer Kurve zusammenstelle, so ergibt sich folgendes Bild.

Die hier gefundenen Mengen sind nicht allein als Coffein in Rechnung zu setzen, denn blinde Versuche am Harn unter Coffeinkarenz gaben an Muskeln gemessen noch folgende Werte:

65 ccm Harn von 1,5 St. Dauer 0,35 mg
 40 ccm Harn von 1 St. Dauer 0,28 mg
 30 ccm Harn von 1 St. Dauer 0,25 mg.

Wenn ich also bei diesen Resultaten die Fehlerquelle stündlich 0,3 mg setze, so würde die ganze Menge Coffein in diesen 10 Stunden 7,6 mg und 11,2% von der eingenommenen Coffeinemenge betragen und in der Kurve würde eine vermutliche Abszisse wie die punktierte Linie liegen.

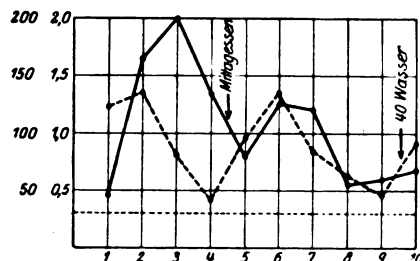


Abb. 1. Coffein 68 mg im Tee. - - - Harnmenge in ccm, — Coffeingehalt im Harn in mg.

Versuch 2. Selbstversuch. 435 ccm Tee wurde beim Frühstück um 9 Uhr eingenommen. Coffeingehalt 139 mg.

Aus diesen Resultaten ergibt sich, daß die Harnmenge sehr von dem Wasserverlust durch die Perspiration abhängt, die je nach der äußeren Temperatur und der Feuchtigkeit der Luft verschieden ist. Der Verlauf der Coffeinausscheidung stimmt dagegen bei den beiden Versuchen im allgemeinen überein, obschon derselbe beim Versuch 2 etwas langsamer vor sich gegangen ist. So wurde in der ersten Stunde nach dem Teetrinken nur eine geringe Menge Coffein ausgeschieden. Der Höhe-

¹⁾ In den durch diese Methode gefundenen Mengen sind wahrscheinlich außer Coffein auch andere spezifisch wirkende Methylxanthine enthalten, wie schon Friedberg vermutet hat. Denn wir wissen durch die bisherigen Forschungen, daß in tierischem Organismus eine teilweise Entmethylierung der mehrfach methylierten Xanthinderivate stattfindet und daß einige von Methylxanthinen auf den Muskel eine ähnliche Wirkung wie die des Coffeins haben.

punkt der Coffeinausscheidung war beim Versuch 1 in der 3. Stunde und beim Versuch 2 in der 4. Stunde. Darauf trat eine starke Abnahme in der Coffeinausscheidung ein. Mit der stärkeren Harnausscheidung nach dem Mittagessen nahm die Coffeinmenge wieder zu und dauerte ein paar Stunden lang an. Während beim Versuch 1 die Coffeinmenge schon in der 8. Stunde sehr tief gesunken war und in der folgenden Zeit geringe Mengen ausgeschieden wurden, wurde beim Versuch 2 für lange Zeit ziemlich viel Coffein ausgeschieden und in der 11. Stunde betrug die Menge noch 0,95 mg. *Friedberg* hat schon gefunden, daß durch die Flüssigkeitsaufnahme die Diurese und zugleich die ausgeschiedene

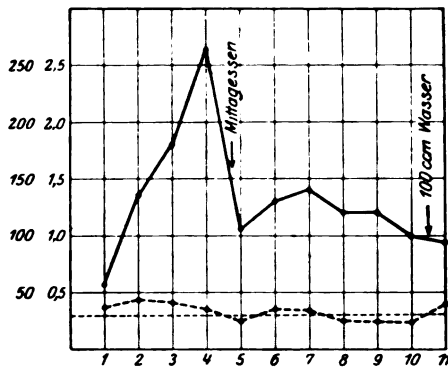


Abb. 2. Coffein 189 mg — — — Harnmenge in cm, — — — Coffeingehalt im Harn in mg.

Bemerkungen: Ganzen Tag schönes Wetter. Heiß. Luft trocken. Nach der Aufnahme des Tees dauerte eine starke Erregung 4 Stunden lang und eine abnorme Sensation an der Herzgegend 2,5 Stunden lang. 1 Uhr 80 Min. bis 1 Uhr 55 Min. Mittagessen. Um 7 Uhr 20 Min. 100 cm Wasser eingenommen.

Die gefund. Coffeinmenge in 10 Std.: 14,47 mg = 14,1%.
Die stündl. Fehlerquelle abgerechn.: 11,17 mg = 8,43%.

Coffeinmenge gesteigert werden. Daraus kann man leicht schließen, daß eine verminderte Harnmenge, die durch die gesteigerte Perspiration bedingt wird, die Coffeinausscheidung hemmen kann. Das zeitlich später erfolgende Auftreten des Höhepunktes und langsamere und länger andauernde Ausscheidung des Coffeins beim Versuch 2 sind sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen.

Wenn man diese Resultate mit denen von *Friedbergs* Versuchen beim Kaffee und bei reinem Coffein vergleicht, so wird man auf verschiedene Punkte aufmerksam. Bei mei-

nen Fällen wurde in der 1. Stunde trotz der größeren Harnmenge nur eine geringe Menge Coffein ausgeschieden. *Friedberg* hat dagegen bei einer Gabe von 100 mg Coffein im Kaffee in der 1. Stunde schon 1,2 mg und bei 200 mg 2,5 mg Coffein gefunden. Weiterhin ist es ein auffallender Unterschied, daß bei meinen Fällen die Coffeinausscheidung sehr lang dauerte, während bei *Friedberg* sie viel schneller vorbei war. Bei seinen Versuchen wurde nach der Aufnahme von 100 mg Coffein im Kaffee schon in der 6. Stunde kein Coffein mehr nachgewiesen und nach einer solchen von 100 mg reinem Coffein war die Bestimmung des Coffeins schon in der 6. Stunde auch negativ, auch wenn die Harnmenge durch viele Wasseraufnahme bedeutend vermehrt war. Daraus schloß er, daß das resorbierte Coffein um diese Zeit schon alles abgebaut ist.

Es fragt sich nun, ob im Verlauf der Coffeinausscheidung zwischen Tee und Kaffee ein tatsächlicher Unterschied vorhanden ist. Um dies zu entscheiden, habe ich den folgenden Versuch mit Kaffee angestellt.

Versuch 3. Selbstversuch. 250 ccm Kaffee und 100 ccm Wasser beim Frühstück um 9 Uhr eingenommen. Coffeinmenge 99 mg.

In den folgenden 2 Tagen, in denen dieselbe Witterung und Temperatur wie am Versuchstage herrschte, wurde zum Vergleich die Harnmenge nach der Aufnahme von Wasser stündlich gemessen. Man sieht, daß beim Versuch 3 das Coffein diuretisch gewirkt hat.

Der Verlauf der Coffeinausscheidung zeigt sich nach diesem Versuche wider Erwarten ganz gleich wie beim Tee. Es war nur eine geringe Coffeinmenge in der ersten Harnportion nachweisbar, trotzdem die Harnmenge dabei sehr groß war. Das Maximum der Coffeinausscheidung stellte sich auch in der 3. Stunde ein. Dann sank die Coffeinmenge im Harn bis zur 5. Stunde, um nach dem Mittagessen bei der vermehrten Harnmenge wieder zu steigen. Dadurch bildete die Kurve einen zweiten Gipfel. Nach diesem Gipfel nahm die Coffeinmenge allmählich ab. Nach 11 Stunden fand sich das Coffein noch in nachweisbaren Mengen im Harn.

Das Coffein wurde also durch Flüssigkeitsaufnahme auch beim Kaffee ausgeschwemmt und die Ausscheidung desselben dauerte fast ebensolange wie beim Tee. Es ist daher kein bemerkbarer Unterschied im Verlaufe der Coffeinausscheidung zwischen Tee und Kaffee.

Die Empfindlichkeit gegen Coffein ist in der Tat individuell nicht immer gleich. Viele Leute werden durch den Genuß von coffeinhaltigen Getränken leicht angeregt und können nachher lange nicht einschlafen, während bei anderen dies nicht der Fall ist. Es scheint daher nicht unmöglich zu sein, daß auch der Verlauf der Coffeinausscheidung

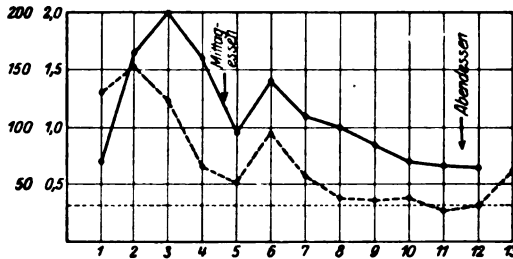


Abb. 8. Coffein 99 mg im Kaffee. - - - - Harnmenge in ccm, ——— Coffeingehalt im Harn in mg.

Bemerkungen: Ganzen Tag schönes Wetter. Warm. Nach der Aufnahme des Kaffees dauerte eine starke Anregung etwa 8 Stunden lang und eine abnorme Sensation an der Herzgegend etwa 2 Stunden lang. 1 Uhr 30 Min. bis 1 Uhr 55 Min. Mittagessen.

Die gefundene Coffeinmenge in 11 Stunden: 12,81 mg = 12,4%.
Die Fehlerquelle abgerechnet: 8,71 mg = 8,78%.

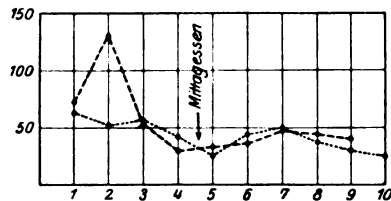


Abb. 4. 400 ccm Wasser beim Frühstück. Harnmengen am 2. Tage, - - - - Harnmenge am 3. Tage.

Bemerkungen: Während der Versuche schönes Wetter. Warm.

individuell verschieden ist. Während ich ziemlich empfindlich gegen Coffein bin, ist dies bei einem meiner Kollegen, einem Japaner, nicht der Fall. Er hat die coffeinhaltigen Getränke sehr gern und kann selbst

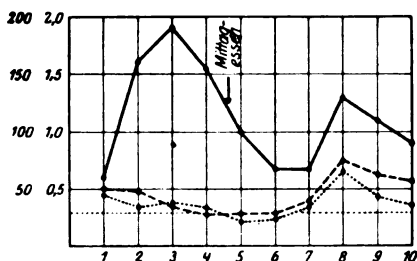


Abb. 5. Coffein 75 mg in Tee. --- Harnmenge in cm, — Coffeingehalt im Harn in mg, ... Harnmenge von einer anderen Person nach der Aufnahme von 300 ccm Wasser.

Bemerkungen: Vormittags schönes Wetter. Sehr heiß. Die Versuchsperson fühlte sich nicht besonders wohl. 1 Uhr 40 Min. bis 2 Uhr Mittagessen. Seit 3 Uhr Himmel bedeckt, wenig Regen. Luft feucht.

Die gef. Coffeinmenge in 10 St.: 11,26 mg = 14,7%.
Die stündl. Fehlerquelle abger.: 8,25 mg = 10,9%.

essen ein, weil das Wetter sehr heiß und trocken war. Dementsprechend war in der 6. und 7. Stunde die ausgeschiedene Coffeinmenge klein. Die Steigerung der Diurese trat unter dem Einfluß des Wetters erst in der

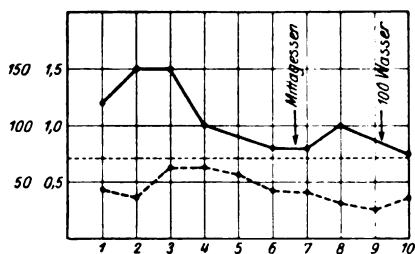


Abb. 6. Coffein 43 mg in Kaffee. --- Harnmenge in cm, — Coffeingehalt im Harn in mg.

Bemerkungen: Schönes Wetter. Sehr heiß. Die Versuchsperson wurde nach der Kaffeeaufnahme 3,5 Stunden lang angeregt und hatte 1 Stunde lang eine abnorme Sensation an der Herzgegend. Bei blinden Versuchen betrug die stündliche Fehlerquelle etwa 0,7 mg.

den anderen zu vergleichen. Die Ausscheidung des Coffeins war dementsprechend gering und verlief schneller als in den vorigen Fällen. Es scheint aber im Verlaufe der Coffeinausscheidung kein bemerkbarer individueller Unterschied zu bestehen.

nach dem Genuß von größeren Mengen noch ruhig einschlafen. Es ist also von gewissem Interesse, den Verlauf der Coffeinausscheidung an diesen beiden Personen zu vergleichen. Ich habe auch in gleicher Weise bei einem Europäer einen Versuch gemacht.

Versuch 4. Ein Japaner von 35 Jahren. 350 ccm Tee beim Frühstück. Coffeinmenge 75 mg.

Bei diesem Versuche war der Verlauf der Coffeinausscheidung fast übereinstimmend wie bei meinen Selbstversuchen. Bei diesem Falle trat aber keine Vermehrung der Harnmenge nach dem Mittagessen ein und gleichzeitig nahm die Coffeinmenge zu. In der 9. und 10. Stunde wurde noch eine ziemlich große Menge Coffein im Harn nachgewiesen. Es ist merkwürdig, daß die Ausscheidung von Coffein nach so langer Zeit bei vermehrter Harnmenge noch gesteigert werden kann.

Versuch 5. Ein Europäer von 26 Jahren. 250 ccm Kaffee. Coffeingehalt 43 mg.

Die Coffeinmenge, die hier aufgenommen wurde, war leider zu wenig, um diese Resultate mit

Zusammenfassung.

Es wurde die Ausscheidung des Coffeins im Harn nach der Aufnahme von Tee und Kaffee stündlich untersucht. Als Menge des Coffeins wurde etwa 70—130 mg gewählt.

Bei Tee und bei Kaffee unterscheidet sich der Verlauf der Coffeinausscheidung im Harn fast nicht.

In der 1. Stunde nach dem Tee- oder Kaffeetrinken wird nur eine geringe Menge Coffein ausgeschieden. In der 2. Stunde ist die ausgeschiedene Menge schon ziemlich groß, und der Höhepunkt der Ausscheidung ist gewöhnlich in der 3., in anderen Fällen in der 4. Stunde. Darauf sinkt die Ausscheidung allmählich, aber es dauert noch ziemlich lange bis sie ganz aufhört. Nach 10—11 Stunden ist das ausgeschiedene Coffein im Harn noch nachweisbar.

Wenn während des Versuches Flüssigkeiten eingenommen werden, so steigt die Coffeinausscheidung selbst noch nach 6—7 Stunden nach der Tee- oder Kaffeeaufnahme. Dies beweist im Gegensatz zu den Resultaten von *Friedberg*, daß das Coffein in dieser Zeit noch im Organismus bleibt und durch Wasserstoß ausgeschwemmt werden kann.

Wie *Friedberg* schon bewiesen hat, begünstigt die gesteigerte Harnmenge die Coffeinausscheidung im Harn. Dagegen können die Nieren trotz der Verminderung der Harnmenge bei intensiverer Perspiration bis zu einem gewissen Grade noch eine große Menge Coffein ausscheiden, wenn das resorbierte Coffein im Organismus in genügender Menge vorhanden ist. Deshalb ist der Verlauf der Ausscheidung in den ersten 5 Stunden bei allen Fällen sehr ähnlich, obwohl dabei in 2 Fällen die Harnmengen sehr klein waren. Selbstverständlich wird die Ausscheidung des Coffeins dadurch mehr oder weniger verzögert.

Die individuelle Verschiedenheit im Verlaufe der Coffeinausscheidung ist nicht nachweisbar. Selbst bei größerer Verschiedenheit der Empfindlichkeit des Gehirns gegen Coffein verläuft die Ausscheidung fast gleich.

Über die Coffeinkonzentration im Blut und Harn beim Kaninchen nach parenteraler Einverleibung.

Von
L. Farmer Loeb.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 19. Februar 1922.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

In Bd. 118. 1921 dieser Zeitschrift veröffentlicht *E. Friedberg*¹⁾ eine biologische Methode zum Nachweis kleinster Coffeinemengen, die er nach Angabe von *W. Straub* ausgearbeitet hat. Auf Veranlassung von Herrn Professor *Straub* habe ich mit Hilfe dieser Methode die Konzentrationsverhältnisse im Blut und Harn beim Kaninchen untersucht.

Der Nachweis von Coffein im Blute ist bisher, soweit ich feststellen konnte, nur von *Joh. Bock* und *R. Bech Larsen*²⁾ versucht worden. Sie haben in dem einen der beiden Versuche einem Kaninchen von 3120 g Gewicht 49 cg Coffein im Laufe von 1½ Stunden kontinuierlich injiziert. Das Tier wurde 6 Stunden nach Beendigung der Injektion getötet und Muskel, Hirn, Leber, Verdauungskanal und Blut auf ihren Coffeingehalt untersucht. Im Blute (36,7 g) wurden 4,5 mg Coffein nachgewiesen. In dem zweiten Versuche wurden bei einem Kaninchen, das 3000 g wog, 10 cg Coffein pro kg Gewicht injiziert und das Tier nach 24 Stunden getötet. Im Muskel, Leber und Blut konnte kein Coffein nachgewiesen werden.

Die von uns benutzte Methodik, die bei *Friedberg* ausführlich beschrieben ist, wurde in meinen Versuchen etwas modifiziert. Sie nahm schließlich folgende endgültige Form an:

Die Blut- resp. Harnprobe wird unter Zusatz von Gips zur Trockene eingedampft, der Rückstand im Exsiccator über H_2SO_4 getrocknet und dann unter Zusatz von Calc. sulf. sicc. eine Stunde lang am Rückflußkühler mit ganz reinem, H_2O -freien Chloroform extrahiert, nach Abkühlung, Abfiltrieren und Abdestillieren des Chloroforms. Zur Entfernung letzter Spuren von Chloroform Erhitzen des Destillationsrückstandes mit Petroläther und dann Trocknen im Exsiccator. Den Destillationsrückstand habe ich nach Angabe von *L. Günzburg*³⁾ in 0,5–2 cem Ca-freier Ringerlösung gelöst und den Muskel ebenfalls in Ca-freiem Ringer

¹⁾ *E. Friedberg*, diese Zeitschr. **118**, 164. 1921.

²⁾ *Joh. Bock* und *R. Bech Larsen*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmakol. **81**, 15. 1917.

³⁾ *L. Günzburg*, Inaug.-Diss. Freiburg 1921.

untersucht. — Versuche der Wiedergewinnung bekannter Coffeinzusätze zu Blut ergaben richtige Resultate.

Zur Kritik der Methode.

Man muß sich bei der Bewertung der Versuchsergebnisse stets vor Augen halten, daß diese Methode eine biologische und keine chemische ist. Sie ist empfindlich, enthält aber sicherlich viele Fehlerquellen. Sie ist trotzdem unter Übung der nötigen Kritik gut geeignet, Vergleichswerte zu erzielen. — Bei der Auswertung des Coffeingehaltes einer Probe darf man unter keinen Umständen, wie *Friedberg* es tat, die Grenzkonzentration der Muskelerregbarkeit als in allen Fällen gleich annehmen. In meinen Versuchen schwankte sie zwischen 1 : 1500 bis 4000. — In seiner Arbeit weist *Friedberg* daraufhin, daß man mit der Methode wahrscheinlich nicht nur Coffein, sondern auch die partiell entmethylierten Abbauprodukte nachweist, ein Ansicht, die ich auch teile. Größere Mengen Theobromin dürften allerdings kaum im Rückstand enthalten sein, da das Theobromin einer energischeren Behandlung mit Chloroform unterworfen werden muß. — Das Erhitzen des Destillationsrückstandes mit Petroläther halte ich für sehr wichtig, um hierdurch alle Spuren von Chloroform zu entfernen. Das Chloroform ruft nämlich Protoplasmaveränderungen am Muskel hervor, die leicht zu einer Kontraktion desselben führen; dadurch kann eine Coffeinwirkung vorgetäuscht werden. — Die von *Günzburg* empfohlene Verwendung von Ca-freier Ringerlösung erleichtert wesentlich die Untersuchungsverhältnisse des Muskels und trägt dadurch zur Verbesserung der Methodik bei. — Ich möchte noch darauf hinweisen, daß es nicht empfehlenswert ist, die Untersuchungen im Sommer auszuführen, wie ich es getan habe, da die Verhältnisse im Froschmuskel zu dieser Jahreszeit sehr ungünstig liegen und eine genaue Auswertung sehr erschweren.

Versuchsergebnisse.

Bevor die Verhältnisse im Blut untersucht wurden, stellte ich einige Vorversuche an, um den Zeitpunkt der maximalen Coffeinausscheidung im Urin zu ermitteln. Es ergab sich dabei, daß die maximale Ausscheidung etwa in der 2. bis 4. Stunde erfolgt.

(Vor-)Versuch 1.

30. V. 1921. ♂ Kaninchen, Gewicht 2950 g. Vor Beginn des Versuches Blase entleert.

10 ^h 30'	100 ccm H ₂ O mit der Schlundsonde eingeführt,	
11 ^h 00'	20 mg Coffein	} 100 mg Coffein intravenös injiziert (Ohrvene).
11 ^h 30'	80 mg Coffein	

1. 12^h 05' 63 ccm Urin, spontane Entleerung der Blase
2. 4^h 25' 81 „ „ „ „ „ „

31. V.

3. 9^h 30' 450 ccm Urin, spontan (Nachtportion)
4. 3^h 30' 63 „ „ „

Über die Coffeinkonzentration im Blut und Harn beim Kaninchen nach parenteraler Einverleibung.

Von
L. Farmer Loeb.

(Aus dem Pharmakologischen Institut der Universität Freiburg i. Br.)

(Eingegangen am 19. Februar 1922.)

Mit 2 Abbildungen im Text.

In Bd. 118. 1921 dieser Zeitschrift veröffentlicht *E. Friedberg*¹⁾ eine biologische Methode zum Nachweis kleinster Coffeinnengen, die er nach Angabe von *W. Straub* ausgearbeitet hat. Auf Veranlassung von Herrn Professor *Straub* habe ich mit Hilfe dieser Methode die Konzentrationsverhältnisse im Blut und Harn beim Kaninchen untersucht.

Der Nachweis von Coffein im Blute ist bisher, soweit ich feststellen konnte, nur von *Joh. Bock* und *R. Bech Larsen*²⁾ versucht worden. Sie haben in dem einen der beiden Versuche einem Kaninchen von 3120 g Gewicht 49 cg Coffein im Laufe von 1½ Stunden kontinuierlich injiziert. Das Tier wurde 6 Stunden nach Beendigung der Injektion getötet und Muskel, Hirn, Leber, Verdauungskanal und Blut auf ihren Coffeingehalt untersucht. Im Blut (36,7 g) wurden 4,5 mg Coffein nachgewiesen. In dem zweiten Versuche wurden bei einem Kaninchen, das 3000 g wog, 10 cg Coffein pro kg Gewicht injiziert und das Tier nach 24 Stunden getötet. Im Muskel, Leber und Blut konnte kein Coffein nachgewiesen werden.

Die von uns benutzte Methodik, die bei *Friedberg* ausführlich beschrieben ist, wurde in meinen Versuchen etwas modifiziert. Sie nahm schließlich folgende endgültige Form an:

Die Blut- resp. Harnprobe wird unter Zusatz von Gips zur Trockene eingedampft, der Rückstand im Exsiccator über H_2SO_4 getrocknet und dann unter Zusatz von Calc. sulf. sicc. eine Stunde lang am Rückflußkühler mit ganz reinem, H_2O -freien Chloroform extrahiert, nach Abkühlung, Abfiltrieren und Abdestillieren des Chloroforms. Zur Entfernung letzter Spuren von Chloroform Erhitzen des Destillationssrückstandes mit Petroläther und dann Trocknen im Exsiccator. Den Destillationsrückstand habe ich nach Angabe von *L. Günzburg*³⁾ in 0,5–2 ccm Ca-freier Ringerlösung gelöst und den Muskel ebenfalls in Ca-freiem Ringer

1) *E. Friedberg*, diese Zeitschr. 118, 164. 1921.

2) *Joh. Bock* und *R. Bech Larsen*, Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol.

3) *L. Günzburg*, Inaug.-Diss. Freiburg 1921.

untersucht. — Versuche der Wiedergewinnung bekannter Coffeinzusätze zu Blut ergaben richtige Resultate.

Zur Kritik der Methode.

Man muß sich bei der Bewertung der Versuchsergebnisse stets vor Augen halten, daß diese Methode eine biologische und keine chemische ist. Sie ist empfindlich, enthält aber sicherlich viele Fehlerquellen. Sie ist trotzdem unter Übung der nötigen Kritik gut geeignet, Vergleichswerte zu erzielen. — Bei der Auswertung des Coffeingehaltes einer Probe darf man unter keinen Umständen, wie *Friedberg* es tat, die Grenzkonzentration der Muskeleerregbarkeit als in allen Fällen gleich annehmen. In meinen Versuchen schwankte sie zwischen 1 : 1500 bis 4000. — In seiner Arbeit weist *Friedberg* daraufhin, daß man mit der Methode wahrscheinlich nicht nur Coffein, sondern auch die partiell entmethylierten Abbauprodukte nachweist, ein Ansicht, die ich auch teile. Größere Mengen Theobromin dürften allerdings kaum im Rückstand enthalten sein, da das Theobromin einer energischeren Behandlung mit Chloroform unterworfen werden muß. — Das Erhitzen des Destillationsrückstandes mit Petroläther halte ich für sehr wichtig, um hierdurch alle Spuren von Chloroform zu entfernen. Das Chloroform ruft nämlich Protoplasmaveränderungen am Muskel hervor, die leicht zu einer Kontraktion desselben führen; dadurch kann eine Coffeinwirkung vorgetäuscht werden. — Die von *Günzburg* empfohlene Verwendung von Ca-freier Ringerlösung erleichtert wesentlich die Untersuchungsverhältnisse des Muskels und trägt dadurch zur Verbesserung der Methodik bei. — Ich möchte noch darauf hinweisen, daß es nicht empfehlenswert ist, die Untersuchungen im Sommer auszuführen, wie ich es getan habe, da die Verhältnisse im Froschmuskel zu dieser Jahreszeit sehr ungünstig liegen und eine genaue Auswertung sehr erschweren.

Versuchsergebnisse.

Bevor die Verhältnisse im Blut untersucht wurden, stellte ich einige Vorversuche an, um den Zeitpunkt der maximalen Coffeinausscheidung im Urin zu ermitteln. Es ergab sich dabei, daß die maximale Ausscheidung etwa in der 2. bis 4. Stunde erfolgt.

(Vor-)Versuch 1.

30. V. 1921. ♂ Kaninchen, Gewicht 2950 g. Vor Beginn des Versuches Blase entleert.

- | | | |
|------------------------|---|--|
| 10 ^h 30' | 100 ccm H ₂ O mit der Schlundsonde eingeführt, | |
| 11 ^h 00' | 20 mg Coffein | } 100 mg Coffein intravenös injiziert (Ohrvene). |
| 11 ^h 30' | 80 mg Coffein | |
| 1. 12 ^h 05' | 63 ccm Urin, spontane Entleerung der Blase | |
| 2. 4 ^h 25' | 81 „ „ „ „ „ „ | |
| | 31. V. | |
| 3. 9 ^h 30' | 450 ccm Urin, spontan (Nachtportion) | |
| 4. 3 ^h 30' | 63 „ „ „ | |

Ergebnisse:

1. Portion

- a) Blut : 1,25 mg in 2,5 g Blut = ∞ 50 mg in 100 g Blut
 b) Urin : 5 mg in 40 ccm Urin = 12,5 mg in 100 ccm Urin.

2. Portion

- a) Blut : 1,6 mg in 3 g Blut = ∞ 50 mg in 100 g Blut
 b) Urin : 3,2 mg in 20 ccm Harn = 16 mg in 100 ccm Urin.

3. Portion

- a) Blut : 1,5 mg in 4,7 g Blut = 32 mg in 100 g Blut
 b) Urin : 1,5 mg in 8 ccm Urin = 18 mg in 100 ccm Urin.

4. Portion

- a) Blut : 0,7 mg in 5,1 g Blut = 13,7 mg in 100 g Blut
 b) Urin : 3,2 mg in 10 ccm Urin = 32 mg in 100 ccm Urin.

Der über 4 Stunden verfolgte Versuch ergab — vgl. die graphische Darstellung Abb. 1 —, daß die Harnmenge dem Gehalt des Blutes an Coffein parallel zu gehen scheint, nicht aber die Menge des gleichzeitig im Harn ausgeschiedenen Coffeins, die sich hier sogar gerade entgegengesetzt verhält.

Ich möchte dieses Ergebnis jedoch mit allem Vorbehalt mitgeteilt haben und enthalte mich der Verallgemeinerung in der Richtung, daß etwa nur die Konzentration des Blutcoffeins für die diuretische Wirkung maßgebend wäre. Es muß weiteren Versuchen vorbehalten bleiben, zu entscheiden, inwieweit hier Gesetzmäßiges vorliegt.

Bei der intravenösen Injektion hat nach der Lage der Umstände die Coffeinkonzentration im Blut ihr Maximum zu Beginn des Versuches. Es war nötig, zu untersuchen, wie sich der Fall gestaltet, in dem die Blutkonzentration anfangs das Minimum hat; dieser Fall ist gegeben, wenn das Coffein subcutan injiziert wird.

Zu diesem Zweck wurde der Versuch 6 angestellt.

Versuch 7. 23. VII. 5 Kaninchen, Gewicht 2500 g. Tier feucht gefüttert. Blase vor Beginn des Versuches entleert.

9^h 07' 200 mg Coffein subcutan injiziert. Es wurden vier Depots (an jeder Extremität eins) zu je 2,5 ccm Lösung angelegt. Injektionsdauer 5 Min.

1. 11^h 05' 150 ccm Urin, Blase ausgedrückt
 11^h 15' 2,8 g Blut aus der Ohrvene entnommen
2. 1^h 10' 100 ccm Urin, Blase ausgedrückt
 1^h 15' 5,9 g Blut aus der Ohrvene entnommen
3. 3^h 20' 50 ccm Urin, Blase ausgedrückt
 3^h 30' 9 g Blut aus der Ohrvene.

Ergebnisse:

1. Portion

- a) Blut: 0,25 mg Coffein in 2,8 g Blut = 10 mg in 100 g Blut
 b) Harn: 11 mg in 150 ccm Harn = 7,3 mg in 100 ccm Harn.

2. Portion

- a) Blut: 1 mg in 5,9 g Blut = 16 mg in 100 g Blut
 b) Harn: 10 mg in 100 ccm Harn.

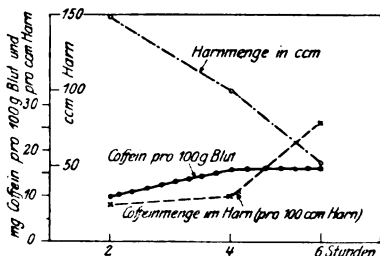


Abb. 2. 200 mg subcutan (Versuch VII).

3. Portion

a) Blut: 1,6 mg in 9 g Blut = 17,7 mg in 100 g Blut

b) Harn: 15 mg in 50 ccm Harn = 30 mg in 100 ccm Harn.

Der Versuch kommt den natürlichen und therapeutischen Verhältnissen der Coffeinapplikation näher als der der intravenösen Injektion. Er ergab andere Beziehungen als der vorige (Abb. 2.). Die injizierte Menge Coffein war der des vorigen Versuches äquivalent. Der absolute Coffeingehalt des Blutes berechnet sich

2 Stunden nach Injektion = 0,0137 g

4 " " " = 0,022 g

6 " " " = 0,024 g;

demnach erreicht die Resorption hier langsam die höheren Grade und hat vermutlich erst nach 4 Stunden ihr Maximum. Trotzdem sinkt die Diurese allmählig ab, während die Coffeinausscheidung in den Harn zunimmt. Auch hier muß es eingehenderen Untersuchungen überlassen werden, die Erscheinungen in Einklang zu bringen mit den Beobachtungen der Coffeinwirkung und Ausscheidung bzw. Verteilung nach innerlicher und intravenöser Applikation.

Ergebnisse.

Mit der Methode der Titration kleinster Coffeinmengen mit Muskelfasern wird die Verteilung parenteral injizierten Coffeins zwischen Blut, Harn und Körperrest in kurzzeitigen Versuchen gemessen.

Intravenös injiziertes Coffein verschwindet beim Kaninchen in wenigen Minuten zu einem Teil aus der Blutbahn, ein anderer beträchtlicher Teil bleibt aber lange im Blut nachweisbar.

Während der Anwesenheit dieses Coffeinanteils besteht Coffeinausscheidung in den Harn und Diurese.

Subcutan injiziertes Coffein ist ebenfalls im Blut zu finden und erscheint gleichzeitig damit im Harn.

Die zeitlichen Beziehungen Blutcoffein — Harncoffein und Diurese konnten noch nicht eindeutig geklärt werden.

Nochmals zur Frage der Verteilung des Zuckers auf Blutkörperchen und Plasma.

Von

W. Falta und M. Richter-Quittner.

(Aus der 3. Med. Abteilung und dem Chem. Laboratorium des Kaiserin-Elisabethspitals in Wien.)

(Eingegangen am 20. Februar 1922.)

Im Jahre 1919 (Bd. 100 dieser Zeitschrift) konnten wir an der Hand eines großen Beobachtungsmateriales zeigen, daß bei Einhaltung einer gewissen Technik der Blutgewinnung *unter normalen Verhältnissen bei verschiedenen Tierarten* (Pferd, Kaninchen, Hund, Rind, Gans) *und insbesondere auch beim Menschen die Blutkörperchen frei von Zucker (Gesamtreduktion) gefunden werden.* Die Untersuchung wurde in der Weise geführt, daß der Gehalt an Zucker im Gesamtblut und im Plasma bzw. Serum bestimmt, das Blutkörperchenvolumen mit dem Hämatokriten ermittelt und aus den so gewonnenen Zahlen der Gehalt der Blutkörperchen an Zucker berechnet wurde. [Dieselbe Methodik wurde für die Untersuchung von Chlor¹⁾, Rest-N usw. angewendet.] Wir haben damals die Bedeutung, welche das Ergebnis dieser Untersuchungen für die klinische Analytik des Blutes besitzt, voll erkannt, indem wir darauf hinwiesen, daß nach dem Ergebnis unserer Untersuchungen die bis damals fast allgemein übliche Untersuchung des Zuckers im Gesamtblut für viele klinische und physiologische Fragestellungen als ungenau bzw. unrichtig betrachtet werden und durch die Untersuchung im Plasma oder Serum ersetzt werden müsse. Wir haben auch schon damals auf die Schwierigkeiten hingewiesen, die darin bestehen, daß unter pathologischen Verhältnissen auch die Blutkörperchen reich an Zucker (und anderen sonst in ihnen fehlenden Substanzen) sein können, und daß es unter diesen Umständen notwendig sein kann, die Analysen im Gesamtblut *und* im Plasma bzw. Serum auszuführen.

Den Grund, warum die früheren Untersucher so differente Resultate erhalten hatten, glaubten wir darin zu sehen, daß bei der Verwendung des damals fast allgemein üblichen Natriumoxalat bzw. Natriumfluorid zur Plasmagewinnung die Blutkörperchen geschädigt würden und da-

¹⁾ Auf die Frage der Verteilung des Chlors werden wir in kurzem eingehen.

durch ein Eindringen von Zucker in dieselben während der Blutgewinnung erfolgen könne. Wir haben daher das von uns in einer Konzentration von 1 bzw. 0,05 auf 100 ccm Blut als sicher unschädlich erkannte Natriumcitrat bzw. Hirudin als besonders geeignet zur Plasmagewinnung empfohlen.

In einer späteren Mitteilung (diese Zeitschr. 114) mußten wir diesen Standpunkt etwas modifizieren, da sich zeigte, daß auch das Natriumoxalat nicht so schädlich ist, als wir ursprünglich vermutet hatten. In derselben Mitteilung haben wir darauf hingewiesen, daß man ebensogut das Blut durch Schütteln mit Glasperlen defibrinieren könne, und haben nochmals betont, daß man, wie schon in der ersten Mitteilung ausgeführt wurde, auch Serum, das durch spontane Gerinnung des Blutes gewonnen wird, verwenden kann. Wenige Monate vor dem Erscheinen unserer ersten Mitteilung war in den Cpt. rend. des séances de la soc. de biol. eine kurze Mitteilung von *Brinkmann* und *van Dam* erschienen, in welcher diese Autoren die These aufstellten, daß die Blutkörperchen des Frosches und auch des Menschen im osmotischen Versuch gegen Traubenzucker impermeabel seien. Bei der chemischen Analyse des Froschblutes fanden diese Autoren die Körperchen zuckerfrei, hingegen war es ihnen nicht gelungen, den direkten chemischen Beweis der Zuckerfreiheit für die Blutkörperchen des Menschen zu erbringen. In einer späteren ausführlichen Arbeit (diese Zeitschr. 105. 1920) haben diese Autoren unsere Arbeit noch vollauf gewürdigt und dadurch, daß sie selbst betonten, daß ihre erste Mitteilung von uns nicht mehr berücksichtigt werden konnte (die französische Literatur war uns damals überhaupt nicht zugänglich) die Selbständigkeit unserer Arbeit anerkannt. *Auch damals war ihnen der direkte chemische Beweis der Zuckerfreiheit für die menschlichen Blutkörperchen noch nicht gelungen.* Die Ursache ihrer eigenen Mißerfolge und derjenigen früherer und neuerer Autoren, die unsere Befunde nicht hatten bestätigen können, sahen sie darin, daß „in den ersten Phasen der Gerinnung“ die Körperchen für Zucker durchgängig würden; *sie verwarfen daher die Verwendung aller gerinnungshemmenden Mittel, was um so merkwürdiger ist, als unsere Analysen bei Verwendung von Hirudin und Natriumcitrat ja in eindeutiger Weise das zeigten, was ihnen selbst zu zeigen nicht gelang.* Auch sprach ja der Umstand, daß unsere Zuckeranalysen *im spontan geronnenen Serum und im Plasma auf das genaueste übereinstimmen, gegen eine Überwertung des von ihnen gefundenen schädlichen Einflusses der „ersten Phasen der Gerinnung“.*

Unseren diesbezüglichen (diese Zeitschr. 114) Hinweis ganz unberücksichtigt lassend, haben später *van Crevell* und *R. Brinkmann* (diese Zeitschr. 119) das Plasma bei Kaninchen aus ligierten Venen, die in schmalen Glasröhrchen zentrifugiert wurden, ohne Zusatz eines gerin-

nungshemmenden Mittels gewonnen, beim Menschen aber das Blut unter Paraffinöl aufgefangen und rasch zentrifugiert. Nun endlich erhielten sie Zahlen, die mit den unseren übereinstimmten und die Zuckerfreiheit der Blutkörperchen zeigten. Erfreut über diesen Erfolg verkündeten sie nun urbi et orbi, daß jetzt endlich zum erstenmal der sichere chemische Nachweis der Zuckerfreiheit der Blutkörperchen erbracht worden sei, während dies uns nicht gelungen sein soll, und in einer späteren Arbeit aus dem *Brinkmannschen* Institut von *I. D. Haan* und *S. van Creveld* über ein ähnliches Thema (diese Zeitschr. 123) erscheint unser Name überhaupt nicht mehr.

Wie irreführend die von *Brinkmann* gegen unsere Methode (die doch ganz einwandfreie Resultate ergeben hat) erhobenen Einwände gewirkt haben, sehen wir daraus, daß *Csaki* (Wien. Arch. f. inn. Med. 3), welcher *Autor im übrigen unsere Untersuchungen vollinhaltlich bestätigt*, sich die größte Mühe gibt, in seinen Untersuchungen das Blut ohne Ver-

Tabelle I.

Datum	Name	Diagnose	Blut- körper- volumen	Gesamt- blut- zucker	Zucker im Plasma		
					Plasma I	Plasma II	Plasma III
3. VIII. 21.	Ho.	Hyper- tonie	46,4	120,54	Na-citrat 0,4 g	Na-citrat 1 g	—
			46,0	120,06	179,28	200,0	—
1. IX. 21.	Grö.	Nephritis	46,6	117,39	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 1 g	—
			46,6	117,46	182,64	211,46	—
13. IX. 21.	„	Nephritis	46,0	114,59	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 1 g	—
			46,0		186,38	207,46	—
22. IX. 21.	„	Nephritis	47,0	120,00	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 1 g	Na-citrat 2 g
			47,0		186,54	210,40	208,68
30. IX. 21.	Zie.	normal	40,0	73,59	Na-citrat 0,1 g	Na-citrat 0,2 g	Na-citrat 0,3 g
			40,0		105,64	105,79	122,54
6. X. 21.	Sve.	Diabetes mellitus	44,0	160,47	Na-citrat 0,3 g	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 0,8 g
			44,0	160,32	180,24	180,54	200,38
7. X. 21.	Kn.	Diabetes melittus	44,5	140,20	Na-citrat 0,3 g	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 0,8 g
			44,5	140,58	200,23	200,46	200,19
				80,56	Na-citrat 0,1 g	Na-citrat 0,2 g	Na-citrat 0,3 g
11. X. 21.	Rich. Zi.	normal	45,0	80,56	145,7	145,0	144,8
			45,0	79,84	Na-oxalat 0,1 g	Na-oxalat 0,2 g	Na-oxalat 0,3 g
					144,39	130,46	125,39
1. II. 22.	Web.	normal	35,0	80,40	Hirudin 0,01 g	Hirudin 0,02 g	Hirudin 0,05 g
			35,0	81,52	105,67	119,47	123,00
			44,0	79,46	Hirudin 0,01 g	Hirudin 0,02 g	Hirudin 0,05 g
					100,38	108,46	139,24
3. II. 22.	Wied.	normal	44,0	79,00	Na-oxalat 0,1 g	Na-oxalat 0,2 g	Na-oxalat 0,3 g
					140,26	101,47	102,40
			46,0	156,2	Na-citrat 0,2 g	Na-citrat 0,5 g	Na-citrat 1 g
6. II. 22.	Mar. Kö.	Hyper- tonie (renale Form)	46,0	157,0	200,4	200,0	199,4
					Na F 0,2 g	Na F 0,3 g	Na F 1 g
					260,0	189,4	200,68

*) Berechnet aus Gesamtblut und Serum.

**) Berechnet aus Gesamtblut und dem niedrigsten Plasmawert.

wendung gerinnungshemmender Substanzen zu gewinnen (was ganz überflüssig ist) und sich zu dem Ausspruche verleiten läßt, daß die bisher angewandte Methode zu keiner richtigen Erkenntnis führen konnte, obwohl schon 1919 absolut einwandfreie Resultate von unserer Seite vorlagen.

Wir müssen daher gegen die oberflächliche und unrichtige Darstellung *Brinkmanns* entschieden Stellung nehmen und, gestützt auf die Erfahrungen einer mehr als 4jährigen Arbeit, unsere Angaben bezüglich der Methodik und der Gewinnung von Plasma und Serum voll aufrechterhalten. Die Beobachtungen von *van Dam* und *Brinkmann* über den schädlichen Einfluß der „ersten Phasen der Gerinnung“ sind nicht richtig gedeutet. Sie beziehen sich, wie wir sogleich zeigen werden, nicht auf die ersten Phasen der Gerinnung, sondern auf eine unvollständige Gerinnung, können in vereinzelt Fällen eine gewisse praktische Bedeutung gewinnen, sind aber in keiner Weise geeignet, das Resultat unserer Untersuchungen irgendwie zu beeinträchtigen.

Tabelle I.

Zucker im Plasma				Serum	Zucker in den Blutkörperchen	
Plasma IV	Plasma V	Plasma VI	Plasma VII		I *)	II **)
—	—	—	—	—	(sp.)	50,0
—	—	—	—	212,57	6,0	42,0
—	—	—	—	206,54	6,0	30,5
Na-citrat 3 g 210,47	—	—	—	209,38	15	45,1
Na-citrat 0,5 g 127,39	—	—	—	126,46	0	25,4
Na-citrat 1 g 200,47	—	—	—	200,50	109,3	134,8
Na-citrat 2 g 200,06	—	—	—	200,06	64,7	65,8
Na-citrat 0,5 g 121,68	Na-citrat 0,7 g 127,39	Na-citrat 1 g 146,45	Na-citrat 1,5 g 145,9	146,0	0	30,2
Na-oxalat 0,5 g 120,46	Na-oxalat 0,7 g 120,54	Na-oxalat 1 g 121,72	Na-oxalat 1,5 g 146,39	148,0	0	31,0
—	—	—	—	122,0	0	35,0
—	—	—	—	—	0	52,0
Na-oxalat 0,5 g 100,39	Na-oxalat 0,7 g 103,64	Na-oxalat 1 g 140,0	Na-oxalat 2 g 140,0	140,0	0	52,0
Na-citrat 1,5 g 259,4	Na-citrat 2 g 260,0	—	—	260,0	35	107,0
Na-F 1,5 g 259,0	Na-F 2 g 259,0	—	—	—	35	118,0

Die Tabelle zeigt in sehr instruktiver Weise, daß dann, wenn zu wenig von den gerinnungshemmenden Substanzen verwendet wird — es gilt dies sowohl vom Natriumcitrat wie vom Natriumoxalat, vom Natriumfluorid und vom Hirudin — tatsächlich zu wenig Zucker im Plasma gefunden wird und daß sich nur dann, wenn die Gerinnung vollständig verhindert oder vollständig herbeigeführt ist, die Werte im Plasma vollkommen mit denen im spontan geronnenen Serum decken. Werden nur Spuren von einem gerinnungshemmenden Mittel hinzugesetzt, so kann sich das Plasma genau so wie das spontan gewonnene Serum verhalten.

Diese Beobachtungen gelten sowohl von normalen Fällen, bei denen die Blutkörperchen praktisch zuckerfrei gefunden wurden, als auch von den Fällen von *Diabetes mellitus*, die, wie wir in zahlreichen bisher noch nicht veröffentlichten Versuchen festgestellt haben, und wie es auch bereits von *Ladislaus Csaki* vor kurzem mitgeteilt wurde, meistens Zucker enthalten. Es sind also nicht die ersten Phasen der Gerinnung, sondern es ist die Unvollständigkeit der Gerinnung, welche das Plasma einen Teil seines Zuckers beim Zentrifugieren an die Blutkörperchen abgeben läßt. Ob es sich hierbei um veränderte Permeabilität der Blutkörperchen oder um Adsorption handelt, wollen wir vorderhand dahingestellt sein lassen.

Nach unseren Erfahrungen genügt in weitaus der größten Mehrzahl der Fälle 1 g Natriumcitrat oder 0,05 g Hirudin auf 100 g Blut vollkommen, um die Gerinnung vollständig zu verhindern. Beim Natriumoxalat, vielleicht auch beim Natriumfluorid, ist die Menge von 1 g oft zu wenig, woraus sich vielleicht manche Fehlschläge früherer Untersucher erklären. Bei Fällen mit vasculärer Hypertonie fanden wir im allgemeinen die Grenze höher, was klinisch nicht uninteressant ist. Bei Verwendung von spontan geronnenem oder durch Schütteln mit Glasperlen defibriniertem Blut entfällt diese Fehlerquelle.

Daß bei so subtilen Untersuchungen neben der richtigen Anwendung der gerinnungshemmenden Mittel auch auf die chemische Analyse die größte Sorgfalt verwendet werden muß, ist selbstverständlich.

Nachfolgendes Beispiel soll zeigen, daß durch kleine Fehler bei der Ausführung der einzelnen Analysen sich ein Zuckergehalt der Blutkörperchen errechnen kann, der in Wirklichkeit gar nicht vorhanden ist.

	Richtige Analyse	Unrichtige Analyse
Blutkörperchenvolumen	44,0	45,0
Zucker im Gesamtblut	82 mg ^o / _o	86 mg ^o / _o
Zucker im Plasma	146 mg ^o / _o	140 mg ^o / _o
Zucker in den Körperchen	0	20 mg ^o / _o

Jeder, der etwas von Blutanalytik versteht, wird uns zugeben, daß derartige Fehler manchmal auch bei sorgfältigem Arbeiten unterlaufen können.

Zusammenfassend möchten wir also sagen, daß bei richtiger chemischer Analyse unter normalen Verhältnissen die Blutkörperchen dann zuckerfrei gefunden werden, wenn

1. entweder die Gerinnung vollkommen verhindert wird, oder
2. wenn vollständige Gerinnung eintritt.

Damit sind die Einwände, die von seiten des Brinkmannschen Institutes gegen unsere Methode und die Priorität unserer Untersuchungen erhoben wurden, hoffentlich endgültig abgetan.

Die Regeneration der Diastase und ihre Abhängigkeit vom Sauerstoff.

Von
W. Biedermann.

(Aus dem Physiologischen Institut zu Jena.)

(Eingegangen am 20. Februar 1922.)

Menschlicher Parotisspeichel enthält von organischen Substanzen außer Spuren von Eiweiß nur noch Fermente [Amylose, Maltase (?), Peroxydase] und man durfte daher in diesem Falle vielleicht am ehesten hoffen, zur Reindarstellung einer Diastase, und zwar einer außerordentlich wirksamen, zu gelangen. Jedenfalls liegen hier die Bedingungen unvergleichlich günstiger als bei irgendeinem anderen Sekret oder gar bei einem so komplizierten Gemisch wie Malzextrakt. Aber auch im gemischten menschlichen Mundspeichel kommt nur noch Mucin hinzu, welches sich leicht, z. T. sogar schon durch Filtrieren, entfernen läßt. Bei Zusatz von Alkohol (etwa das doppelte Volum) scheidet es sich sofort in groben Flocken aus; zugleich entsteht, wenn der Speichel diastatisch kräftig wirksam war, eine starke diffuse Trübung, die sich langsam als weißes Sediment absetzt, welches neben kleinen Mengen unlöslich gewordenen, koagulierten Eiweißes in der Hauptsache aus einer *wasserlöslichen* Substanz besteht, die auch bei noch so langer Einwirkung von Alkohol nicht koaguliert, und an welche die Fermentwirkung nachweislich gebunden ist. *Diese Substanz gibt alle Eiweißreaktionen, zeigt aber zugleich das charakteristische Verhalten einer Albumose und wird außerdem durch starke HCl gefällt; die entstandene Trübung verschwindet beim Erhitzen, um beim Erkalten wiederzukehren. Es handelt sich also um einen ganz spezifischen Eiweißkörper, dessen wässerige, außerordentlich stark diastatisch wirkende Lösung bei allmählichem Erhitzen ein sehr charakteristisches Verhalten zeigt, indem sie sich zwischen 70 und 80° durch Ausscheidung von koaguliertem Eiweiß stark trübt. Dabei bleibt aber ein albumosenartiger Rest gelöst, dessen Vorhandensein im Filtrat sich immer leicht nachweisen läßt.* Es liegt nahe, die schwache, aber ganz unzweifelhaft vorhandene diastatische Wirkung von gekochtem Speichel auf diesen thermostabilen Rest jenes Proteids zu beziehen. Da nun auch der Rohstärke, ähnlich wie dem Gummi arab.,

ein diastatisch wirkendes Ferment anhaftet, wie sich leicht zeigen läßt, wenn man kalt bereitete wässrige Stärkeextrakte mit Amyloselösungen zusammenbringt, so schien mir die Annahme einer „Autolyse“ auch in jenen Fällen zulässig, wo ich seinerzeit hydrolytische Spaltung von heiß (bei 80°) bereiteten Amyloselesungen nach Zusatz von Speichelasche sowie gewisser Salzlösungen beobachtet hatte. Denn da sich pflanzliche Diastase hinsichtlich ihres Verhaltens in fast allen Punkten mit Speichelamylase als übereinstimmend erwies, so durfte auch hier ein Rest diastatischer Wirksamkeit als gebunden an eine albumosenartige, relativ thermostabile Komponente des spezifischen Eiweißkörpers vorausgesetzt, werden und es kam nur darauf an, die günstigsten Bedingungen für deren Wirksamwerden zu schaffen.

Da es sich diesfalls aber von vornherein nur um Fermentspuren handelt und die Reaktionsgeschwindigkeit dementsprechend sehr gering ist, so dauert es oft stundenlang, ehe die Prüfung mit Jod erfolglos bleibt. Immerhin sieht man unter den günstigsten Bedingungen, namentlich mit Kochsalz-Phosphatmischungen (vgl. Fermentforschung IV, S. 20) den achromischen Punkt schon in so kurzer Zeit eintreten, daß jeder Einwand einer etwaigen Mitbeteiligung von Bakterien gänzlich ausgeschlossen erscheint.

Da nun gerade meine auf eine (relative) Thermostabilität der diastatischen Fermente deutenden Versuche sowie die damit nahe zusammenhängenden über Stärkeautolyse, die den Ausgangspunkt meiner Fermentarbeiten bilden, mehrfach auf Widerspruch gestoßen sind und noch jüngst wieder von Rothlin¹⁾ „widerlegt“ und auf Versuchsfehler bezogen wurden, so habe ich mich bemüht, sie noch beweisender zu gestalten.

Meine Untersuchungen haben mich zu der Überzeugung geführt, daß die diastatischen Fermente außerordentlich komplexer Natur sind, indem die organische Grundsubstanz für sich allein ganz unwirksam ist und, wie man schon seit langem weiß, unbedingt gewisser Salze (Ionen) zu ihrer Aktivierung bedarf, mit denen sie offenbar eigenartige, komplexe Verbindungen eingeht. Dabei ist bemerkenswert, daß schon ganz kleine Mengen der betreffenden Ionen genügen, um verhältnismäßig große Fermentmengen wirksam zu machen, worauf es hauptsächlich beruht, daß es nur sehr schwer gelingt, eine Fermentlösung durch Dialyse zu inaktivieren. Dies ist aber nicht die einzige Bedingung für das Wirksamwerden der Diastasen. Es kommt noch hinzu der große Einfluß der Wasserstoffionenkonzentration, wenngleich gerade dieser Faktor nicht so ausschließlich maßgebend ist, wie dies L. Michaelis auf Grund seiner Erfahrungen annehmen zu müssen glaubte. Die Fermentmenge und das Säurebindungsvermögen der organischen Grundlage des Fermentes

¹⁾ Fermentforschung V, 1922. S. 236.

spielen hier eine wesentliche Rolle. (Vgl. diese Zeitschr. 127, 38 und Fermentforschung V. Auch bestehen zwischen Diastasen verschiedener Herkunft hinsichtlich der Säureempfindlichkeit beträchtliche Differenzen und wirkt beispielsweise pflanzliche Diastase viel besser bei schwach saurer Reaktion als bei neutraler, die wieder für Speicheldiastase als optimal gilt.

Eine genauere Untersuchung der Abhängigkeit der diastatischen Wirkung von der Temperatur hat mich nun zur Entdeckung eines weiteren Faktors geführt, der die Speichelamylase in ausschlaggebender Weise beeinflusst und sie als ein noch viel komplizierteres System erscheinen läßt, als man schon bisher annehmen mußte. Mancherlei Erfahrungen ließen mich schon lange vermuten, daß der *Sauerstoff* bei der diastatischen Wirkung eine gewisse Rolle spielt; doch war es mir nicht gelungen, eine ganz überzeugende Tatsache zu finden. Ich will nun die Beschreibung eines sehr einfachen Versuches voranstellen, welcher die Richtigkeit der Auffassung beweist, zu der mich meine bisherigen Untersuchungen geführt haben, und zugleich alle Einwendungen, die mir gemacht wurden, in schlagendster Weise widerlegt.

Wenn man einen möglichst kräftig wirkenden Speichel — (es soll ein Tropfen bei gewöhnlicher Temperatur einige Kubikzentimeter 1proz. Amyloselösung in wenigen Sekunden bis zum Verschwinden der Jodreaktion umsetzen) — filtriert, was infolge des Mueingehaltes sehr langsam vonstatten geht, so erhält man ein absolut wasserklares Filtrat, und auf dem Filter bleibt ein großer Teil des Mucins als glasiger, äußerst zäher Schleim zurück. Je 10 ccm des Filtrates werden in 2 Reagensgläsern in einem Wasserbad mit eingestelltem Thermometer bis auf 100° erhitzt. (Ich will lieber sagen „bis zum beginnenden Sieden“; das Thermometer zeigt dann etwa 98°.) Bei etwa 73° beginnt Trübung, die bis 80° rasch zunimmt und durch Ausscheidung von koaguliertem Eiweiß bedingt wird, welches seiner Hauptmasse nach nicht frei, sondern *als Bestandteil des den Träger der Fermentwirkung darstellenden Proteids* im Sekrete enthalten ist. Die Trübung ist eine diffuse, nur wenige größere Flöckchen schwimmen an der Oberfläche; auch bei langem Stehen tritt keine Sedimentbildung ein. Sobald das Wasser des Wasserbades zu sieden beginnt, werden die Speichelproben herausgenommen und die eine, um stärkere Abkühlung zu vermeiden, wieder in Wasser von 60° eingetaucht. Der Inhalt des anderen Gläschens wird heiß (bei etwa 50—60°) filtriert, wobei man sich am besten eines Heißwassertrichters bedient, da das Filtrieren wieder sehr langsam vor sich geht; auch muß das Filtrat bei gleicher Temperatur gehalten werden. Da die ersten Portionen meist trüb durchgehen, so sind sie zurückzugeben. Von der ersten, *unfiltrierten* Probe werden dann mit einer Pipette 2 ccm entnommen und mit ebensoviel 1proz., nach meinen Vor-

schriften bereiteter, *unmittelbar vorher frisch aufgekochter* luftfreier Amyloselösung in einem kleinen Meßröhrchen vermischt, *etwas Toluol aufgegossen* und dann sofort in ein Wasserbad mit einer konstanten Temperatur von 45° eingestellt. Der Rest der trüben Speichelprobe wird jetzt durch Einstellen in kaltes Wasser rasch abgekühlt und dann im Reagensröhrchen *mehrere Minuten* kräftig mit Luft geschüttelt. 2 ccm dieser trüben Lösung mit der gleichen Menge auch mit Luft geschüttelter, ungekochter Amyloselösung vermischt *ergeben nun bei 45° den achromischen Punkt schon nach etwa 15 Minuten*, während die sonst völlig gleiche, aber sauerstofffreie Probe auch nach mehreren Stunden auf Jodzusatz noch rein blau reagiert.

Wesentlich verschieden verhält sich bei sonst ganz gleicher Behandlung der klar filtrierte Kochspeichel. Es macht sich in diesem Falle der Einfluß des Schüttelns zwar auch sehr bemerkbar, aber doch *in unverhältnismäßig geringerem Grade*. Hier dauert es immerhin 1–2 Stunden, bevor bei Vermischung gleicher Volumina des klaren geschüttelten Filtrates und der ebenso behandelten Amyloselösung der achromische Punkt erreicht wird. Das O-freie Filtrat ist fast vollkommen unwirksam.

Man hat es also ohne Zweifel mit einer *erstaunlich weitgehenden Regeneration der an sich tief gesunkenen diastatischen Kraft des bis zum Sieden erhitzten Speichels zu tun*, die lediglich durch den Einfluß des Sauerstoffs vermittelt wird. Dabei spielt aber offenbar das feinverteilte, koagulierte Eiweiß eine ganz wesentliche Rolle. Welcher Art diese ist, wird im folgenden noch zu erörtern sein. Hier möchte ich nur als nächstliegende Folgerung hervorheben, daß im Gegensatz zu den herrschenden Anschauungen, aber *in voller Übereinstimmung mit meinen bisherigen Untersuchungen die Speicheldiastase durch kurze Einwirkung von Siedehitze nicht völlig zerstört wird. Es hinterbleibt ein Rest, der in Verbindung mit Sauerstoff noch eine sehr kräftige diastatische Wirkung auszuüben vermag, ohne solchen aber selbst unter den günstigsten Bedingungen höchstens Spuren enzymatischer Wirkung erkennen läßt*. Es muß ausdrücklich bemerkt werden, daß die Thermostabilität der Speicheldiastase *nur eine relative* ist, indem bei längerer Einwirkung der Siedehitze die Regenerationsfähigkeit sehr leidet. Schon 2–3 Minuten dauerndes Kochen genügt, um die diastatische Wirkung von filtriertem Speichel so weit herabzusetzen, daß die mit Luft geschüttelte trübe Flüssigkeit unter gleichen Bedingungen wie vorher *mehrere Stunden* braucht, um den achromischen Punkt zu erreichen. Ein Rest enzymatischer Wirksamkeit bleibt aber auch dann noch erhalten, denn es kann keine Rede davon sein, den beobachteten Erfolg etwa als Bakterienwirkung zu deuten. Will man die beschriebenen Versuche wiederholen, so ist daher, wie schon erwähnt, in erster Linie darauf zu achten, *daß die Speichelproben aus dem Wasserbad genommen werden, sobald dieses leb-*

haft zu sieden beginnt. Auch ist zu empfehlen, statt filtrierten Speichels eine reine Lösung der spezifischen Proteinsubstanz zu verwenden, an welche man hier wie in anderen Fällen die diastatische Wirkung gebunden findet, da dann, wie gleich gezeigt werden soll, der Erfolg des Schüttelns mit Luft, wenn möglich, noch auffallender ist. Um eine solche Lösung herzustellen, genügt es, eine Portion *recht wirksamen* Speichels (etwa 20 ccm) mit dem 3fachen Volum absoluten Alkohols zu schütteln. Es scheidet sich dann das Mucin sofort in groben weißen Flocken aus, während die übrige Flüssigkeit sich milchig trübt. Nach 12–24stündigen Stehen wird der weiße Bodensatz, der fast ganz aus wasserlöslicher „Speichelalbumose“ neben sehr wenig koaguliertem und daher wasserunlöslich gewordenem Eiweiß besteht, abfiltriert und in ebensoviel 0,5proz. NaCl-Lösung gelöst, als ursprünglich Speichel verwendet wurde. Eine solche absolut wasserklare Fermentlösung ist bei Zusatz von etwas Chloroform oder Thymol monatelang in unveränderter Wirksamkeit haltbar.

Beim Erhitzen einiger Kubikzentimeter in einem Reagensglas im Wasserbad beginnt die Trübung durch Ausscheidung von koaguliertem Eiweiß etwas früher als in dem noch mucinhaltigen, filtrierten Speichel (bei etwa 70°). Bei 80–85° bilden sich zahlreiche größere weiße Flöckchen, doch bleibt eine schwache diffuse Trübung bestehen, die erst durch Filtrieren entfernt werden kann. Hat man in der schon beschriebenen Weise bis zum beginnenden Sieden erhitzt, das Reagensglas dann herausgenommen und in Wasser von etwa 50° eingestellt, entnimmt nun 1 oder 2 ccm der *unfiltrierten* Lösung mit einer Pipette, setzt ebensoviel kurz vorher aufgekochte Amyloselösung zu und bringt dann die mit Toluol überschichtete Probe in ein Wasserbad mit einer konstanten Temperatur von 45°, so dauert es viele Stunden, ehe die blaue Jodreaktion einen Umschlag in Violett erkennen läßt. Um so überraschender ist das Ergebnis eines gleichen Versuches mit derselben unfiltrierten Lösung, wenn man diese nach vorhergehender Abkühlung einige Minuten kräftig mit Luft geschüttelt hat. *Dann vollzieht sich die Hydrolyse der Amylose so rasch, daß nach höchstens 10 Minuten der achromische Punkt erreicht wird.* Man erhält durchaus den Eindruck, daß die Aktivierung durch Sauerstoff in einer solchen reinen Fermentlösung noch wesentlich energischer verläuft als im mucinhaltigen, filtrierten Speichel. Dies zeigt sich besonders in dem Verhalten einer solchen nach dem Erhitzen *filtrierten* Lösung, indem *die Zeit bis zum Verschwinden der Jodfärbung in diesem Falle nach dem Schütteln mit Luft höchstens eine Stunde beträgt*; in wenigen Minuten aber wirkt ein solches stark mit Luft geschütteltes Filtrat, wenn die Fermentlösung nur auf 85–95° erhitzt wurde. Da derartige Filtrate vollkommen wasserklar sind, so ist damit zugleich bewiesen, daß *das Vorhandensein der schwebenden Teilchen von koagu-*

liertem Eiweiß für den Vorgang der Aktivierung durch Sauerstoff zwar in hohem Grade fördernd wirkt, aber doch keineswegs unbedingt erforderlich ist. Dagegen ist eine möglichst innige Durchmischung von Luft und Flüssigkeit sehr wesentlich, und es wird daher eine Probe von Kochspeichel sehr viel schneller durch Schütteln aktiviert als durch Stehen an der Luft, selbst wenn die Lösung in dünner Schicht ausgebreitet ist. Gießt man einige Kubikzentimeter filtrierten und dann bis zum beginnenden Sieden des Wasserbads erhitzten Speichels (*ohne abermals zu filtrieren*) auf einen Teller aus und läßt sie vor Verdunstung geschützt bei Zimmertemperatur stehen, so muß man doch immerhin mehrere Stunden warten, um eine ähnliche hochgradige Aktivierung zu erzielen, wie sie durch Schütteln mit Luft in wenigen Minuten erreicht wird.

Die beschriebenen Versuche liefern den einwandfreien Beweis, daß *kurze* Einwirkung von Siedehitze das Speichelferment nicht, wie bisher angenommen wurde, völlig zerstört, sondern daß noch ein sehr erheblicher Teil diastatischer Wirksamkeit erhalten bleibt, aber freilich sozusagen latent, indem der mit der Erwärmung verbundene Verlust an Sauerstoff das Ferment bzw. den Fermentrest inaktiv macht. Sorgt man aber für genügende Sauerstoffzufuhr, so erfolgt eine weitgehende „*Regeneration*“.

Es wirken also, wie ich dies schon früher vermutungsweise ausgesprochen hatte, in der Tat 2 Faktoren beim Erhitzen der Speicheldiastase schädigend auf das Enzym ein, *die Wärme und der Sauerstoffmangel*, die erstere hauptsächlich dadurch, daß zwischen 70 und 80° sich koagulierte Eiweiß aus der Fermentlösung ausscheidet, *womit nachweislich immer ein sehr bedeutender und bleibender Abfall der diastatischen Kraft verbunden ist.* Bei weiterer Zunahme der Temperatur bleibt jene dann ziemlich konstant, bis endlich bei etwa 95° eine neue auffallende Verminderung der enzymatischen Wirksamkeit eintritt, die aber nicht wie die erstere auf eine wirkliche Schädigung, d. h. eine substantielle Veränderung der organischen Grundlage des Fermentes (bzw. des noch vorhandenen Restes derselben) zu beziehen ist, sondern lediglich durch Sauerstoffmangel vorgetäuscht wird.

Verfolgt man genauer die allmählichen Veränderungen der diastatischen Wirksamkeit bei steigender Temperatur am filtrierten Speichel oder an reinen Fermentlösungen, so läßt sich leicht feststellen, daß eine merkliche Veränderung der diastatischen Kraft erst in dem Augenblick einsetzt, wo sich die Lösungen durch Ausscheidung von koagulierte Eiweiß zu trüben beginnen (zwischen 70 und 80°). Unterbricht man, sobald der Koagulationsprozeß beendet ist (bei 80°), die Erwärmung und prüft sofort die diastatische Wirkung, indem man gleiche Mengen (je 1 ccm) der nicht filtrierten trüben Lösung und 1 proz. Amylose vermischt und die Probe bei 45° hält, so findet man,

wenn es sich um filtrierten Speichel handelt, die diastatische Kraft so stark herabgesetzt, daß erst in etwa $\frac{3}{4}$ Stunde der achromische Punkt erreicht wird. *Dies ist aber nur dann der Fall, wenn die Aufnahme von Sauerstoff aus der Luft dadurch möglichst hintangehalten wird, daß man gleich, nachdem 80 erreicht sind, aus dem noch im Wasserbad befindlichen Röhrchen mittels einer Pipette 1 ccm entnimmt, mit ebensoviel kurz vorher aufgekochter luftfreier Amyloselösung vermischt und mit Toluol überschichtet. Die Probe wird dann sofort wieder in ein Wasserbad mit konstanter Temperatur von 45° eingestellt.*

Es wäre irrig, wollte man aus diesem Versuch schließen, daß durch Erhitzung auf 80° bereits eine so starke Schädigung der Substanz des Speichelfermentes bewirkt wird, wie man dies auf Grund der langen Reaktionszeit (Zeit bis zum Verschwinden der Jodreaktion) und der vorhergegangenen Ausfällung von Eiweiß wohl für nicht unwahrscheinlich halten würde. Man kann sich sofort in einfachster Weise vom Gegenteil überzeugen. *Schüttelt man den Rest des inzwischen durch Einstellen in kaltes Wasser abgekühlten trüben Speichels einige Minuten stark mit Luft und mischt dann 1 ccm desselben mit ebensoviel Amyloselösung, die auch vorher mit Luft geschüttelt wurde, so erreicht diese Probe (bei 45°) durchschnittlich in 5 Minuten den achromischen Punkt.* Ganz das gleiche Verhalten zeigt filtrierter Speichel auch nach Erhitzen auf 90°. Bei 95° läßt sich aber in einer luftfreien Probe schon eine viel stärkere Verzögerung der Reaktionszeit (bis zu 2 Stunden) feststellen, während eine gleiche, aber mit Luft geschüttelte Probe auch jetzt noch in etwa 10 Minuten bis zum Verschwinden der Jodreaktion umgesetzt wird. Über die Größe des Restes von diastatischer Kraft, die beim Erhitzen von Speichel bis nahe zum Siedepunkt noch übrigbleibt, erhält man natürlich nur nach dem Schütteln mit Luft wirklichen Aufschluß. Wenn man dann die verhältnismäßig große Energie der enzymatischen Wirkung unter den gewählten Versuchsbedingungen berücksichtigt, so könnte man leicht zu der nicht zutreffenden Ansicht kommen, es habe die diastatische Kraft bei Temperaturgraden zwischen 80 und 100° überhaupt nur unerheblich gelitten. Dies ist aber keineswegs der Fall, und es ist nicht schwer, sich davon zu überzeugen. Während ein Tropfen des filtrierten Speichels vor dem Erwärmen 1 ccm 1proz. Amylose bei Zimmertemperatur momentan bis zum Verschwinden der Jodreaktion abbaut, wird der achromische Punkt nach dem Erhitzen auf 80 oder 90° auch selbst durch 3 Tropfen einer mit Luft kräftig geschüttelten Speichelprobe günstigsten Falles erst in etwa $\frac{1}{2}$ Stunde herbeigeführt.

Das Verhalten von Lösungen der Speicheldiastase bei Temperaturgraden zwischen 80 und 95° scheint mir, abgesehen von anderen noch zu erwähnenden Tatsachen, entschieden dafür zu sprechen, *daß es nicht nur der physikalisch absorbierte Sauerstoff ist, von dem die Aktivierung*

des albumosenartigen Fermentrestes abhängt. Denn einerseits dürfte wohl schon bei 80° nur wenig Luft mehr in der Flüssigkeit enthalten sein, andererseits aber wäre, selbst wenn noch Sauerstoff vorhanden war, zu erwarten gewesen, daß nicht nur die Reaktionszeiten der mit Luft geschüttelten Proben innerhalb jenes Temperaturintervalls annähernd konstant bleiben, was einer *potentiell* gleichbleibenden diastatischen Kraft des Fermentrestes entspricht, sondern man hätte das gleiche wohl auch bei den nicht mit Luft geschüttelten Proben voraussetzen dürfen. Statt dessen macht sich aber in diesem Falle etwa bei 95° eine sehr auffallende sprunghafte Änderung der Reaktionszeit im Sinne einer Zunahme derselben bemerkbar, während eine gleichstark erhitzte, aber mit Luft geschüttelte Probe auch dann noch keine erhebliche Verminderung der diastatischen Kraft erkennen läßt. Dies kann kaum anders gedeutet werden, als daß der Sauerstoff an das Ferment bzw. den Fermentrest, um den es sich gegebenenfalls handelt, in irgendeiner Weise gebunden ist, und daß diese Bindung erst bei einer dem Siedepunkt nahen Temperatur gelöst wird. In gleichem Sinne scheint mir auch ihr so auffallender Einfluß zu sprechen, welchen das in den erhitzten Proben vorhandene, ausgefällte und koagulierte Eiweiß auf den Vorgang der Sauerstoffaktivierung ausübt. In Hinblick auf die schönen Versuche von Warburg über die Bedeutung fester Phasen für die Beschleunigung von Gasreaktionen und speziell von Oxydationsprozessen war daran zu denken, ob nicht auch im vorliegenden Falle die Reaktionsbeschleunigung unter Vermittlung von *adsorbiertem* Sauerstoff zustande kommt. Ich habe daher versucht, erhitzte (über 95°) und dann filtrierte reine Lösungen von Speichelferment, die, wie erwähnt, an und für sich trotz Schüttelns mit Luft eine nur verhältnismäßig schwache Wirkung zeigen, dadurch stärker zu aktivieren, daß ich vor dem Schütteln fein verteiltes, koaguliertes Eiweiß oder Tierkohle zusetzte. Es ließ sich aber auf diese Weise keine Beschleunigung erzielen, die größer gewesen wäre als bei gleichlangem Schütteln ohne Zusatz.

Da es bekannt ist, wie leicht Fermente unter Umständen von Niederschlägen mitgerissen werden, so war auch mit der Möglichkeit zu rechnen, daß ein Teil des Fermentrestes an dem Eiweißniederschlag haftet und daher im Filtrate fehlt. In der Tat läßt sich zeigen, daß dies bis zu einem gewissen Grade der Fall ist. Wenn man den mit Kochsalz gewaschenen Filtrerrückstand nach Möglichkeit durch Abstreichen sammelt und in einigen Kubikzentimetern 0,5 proz. Kochsalzlösung aufschwemmt, dann mit Luft schüttelt und gleiche Volumina der Suspension mit Amyloselösung mischt, so läßt sich nach längerem Stehen bei 45° eine schwache diastatische Wirkung nachweisen. Doch kann diese unter keinen Umständen als ausreichend gelten, um den großen Unterschied zwischen der enzymatischen Kraft einer bis zum beginnenden Sieden

erhitzten, dann mit Luft geschüttelten Probe einer reinen Fermentlösung und eines ebenso behandelten Filtrates zu erklären. Es gewinnt so den Anschein, als ob dem ausgeschiedenen koagulierten Eiweiß im gegebenen Falle Eigenschaften zukämen, die es *in spezifischer Weise* befähigen, den Sauerstoff auf den Fermentrest zu übertragen; denn um eine solche Übertragung muß es sich doch wohl handeln, da sonst der so bedeutende Unterschied zwischen der diastatischen Wirkung einer nach dem Erhitzen mit Luft geschüttelten filtrierten und einer ebensolchen nicht filtrierten Fermentlösung unverständlich wäre. Ich bin vorläufig nicht in der Lage, eine völlig befriedigende Erklärung des Einflusses zu geben, welchen die koagulierte Eiweißkomponente des Ferments auf die Sauerstoffaktivierung des Restes ausübt, möchte aber nicht unterlassen, auf die Möglichkeit hinzuweisen, daß dabei die im Speichel sowie in pflanzlicher Diastase nachweisbare Peroxydase eine gewisse Rolle spielt. Weitere Untersuchungen müssen darüber Aufschluß bringen.

Der Sauerstoff scheint nach allem, was ich bisher darüber zu ermitteln vermochte, zu der organischen Grundlage des Fermentes in einer ähnlichen Beziehung zu stehen wie die für die enzymatische Wirkung ebenfalls unerläßlichen Salzionen. Es ist bekannt, daß es kaum gelingt, Speichellösungen durch Dialyse so weit salzfrei zu machen, daß sie vollkommen inaktiv werden. Es war nun schon auf Grund der Wärmeversuche zu erwarten, daß eine Inaktivierung durch Sauerstoffentziehung *bei gewöhnlicher Temperatur* wohl noch wesentlich größeren Schwierigkeiten begegnen wird. Wenn, wie die mitgeteilten Versuche zeigen, Fermentlösungen selbst noch nach Erhitzung auf Temperaturen nahe dem Siedepunkt, wo absorbiertes Gas kaum noch vorhanden sein kann, auch ungeschüttelt noch immer eine wiewohl stark herabgesetzte diastatische Wirkung besitzen, auch wenn man durch eine Toluolschicht eine nachträgliche Absorption von Sauerstoff aus der Luft verhindert, so muß man wohl auf eine sehr feste Bindung des Sauerstoffs schließen. Es war daher auch von vornherein kaum zu erwarten, daß es gelingen würde, eine ähnliche Herabsetzung der diastatischen Kraft des Speichels etwa durch Evakuieren bei gewöhnlicher Temperatur zu erzielen. Käme für die Aktivierung der Diastase Sauerstoff nur insoweit in Betracht als er im Lösungsmittel physikalisch absorbiert enthalten ist, so müßten Störungen der diastatischen Wirksamkeit im Sinne einer Verminderung derselben sich schon bei verhältnismäßig geringen Änderungen des Partiardruckes geltend machen, was erfahrungsgemäß nicht der Fall ist. Auch wenn ich 20 ccm einer reinen, in der schon angegebenen Weise hergestellten und dann noch stark mit Wasser verdünnten Lösung von Speichelferment mittels einer Wasserstrahlpumpe evakuierte, erwies sich die diastatische Kraft

zwar merklich, aber doch nur unerheblich vermindert. 3 Tropfen der evakuierten Lösung ergaben mit 5 ccm 1proz. vorher ausgekochter Amyloselösung bei Zimmertemperatur den achromischen Punkt in 10 Minuten, während 3 Tropfen derselben mit Luft geschüttelten Fermentlösung die gleiche Menge lufthaltiger Amyloselösung in 2 Minuten ebensoweit umsetzten. Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß beim Evakuieren eine auffallend starke Gasentwicklung stattfand, der möglicherweise eine Sauerstoffentbindung zugrunde liegt.

Wie geringe Spuren von Sauerstoff noch genügen, um eine, wenn auch nur schwache diastatische Wirkung zu ermöglichen, zeigt sehr anschaulich der folgende Versuch. Wenn ich *einen* Tropfen meines filtrierten und mit Wasser im Verhältnis von 1 : 3 verdünnten Speichels in ein bis zum Rande mit Leitungswasser gefülltes Reagensglas bringe, welches eine Glasperle zum Durchmischen enthält und dann 1 ccm der Mischung mit ebensoviel 1proz. Amyloselösung zusammenbringe, so wird der achromische Punkt bei Zimmertemperatur nach etwa 17 Minuten erreicht. Nun wird Wasser gut ausgekocht und dasselbe Reagensröhrchen damit wieder bis zum Rande gefüllt. Ein über die Mündung geschobenes Deckglas verhindert den Eintritt der Luft während der Abkühlung. Sobald etwa 50° erreicht sind, wird eine Glasperle und wie vorher ein Tropfen der früheren Speichellösung in das luftfreie Wasser gebracht. Nach gutem Durchmischen, wobei durch den aufgesetzten Finger das Eindringen von Luft verhindert wird, werden in ein kleines Meßröhrchen, welches 8 ccm faßt, 4 ccm der nun luftfreien, stark verdünnten Speichellösung gebracht und die andere Hälfte des Raumes mit frisch ausgekochter Amyloselösung aufgefüllt und sofort (ohne Luftblase) fest verschlossen. Bei 45° wird nunmehr der achromische Punkt *erst nach 2 Stunden* erreicht, während eine mit Luft geschüttelte Probe derselben Speichelverdünnung unter den gleichen Bedingungen die Jodreaktion wieder so rasch zum Verschwinden bringt wie beim ersten Versuch. Wenn also die verschwindend kleine Menge Sauerstoff, die mit dem einzigen Tropfen verdünnten Speichels in das große Volum luftfreien Wassers gelangt ist, ausreicht, um immer noch eine wiewohl schwache diastatische Wirkung zu bedingen, dann kann dies wohl kaum anders gedacht werden, als daß der Sauerstoff mit dem Ferment mehr oder weniger fest verbunden bleibt und sich ähnlich wie die Salzionen nur schwer aus dieser Verbindung lösen läßt.

Da es, wie der letzte Versuch zeigt, gelingt, selbst kleinste Mengen von nahezu inaktiver Speicheldiastase durch Schütteln mit Luft wieder normal wirksam zu machen, so durfte man erwarten, daß sich ein ähnlich fördernder Einfluß des Sauerstoffs auch bei den Autolyseversuchen mit Amylose-Salzlösungen in einer entsprechenden Verkürzung der Reaktionszeit äußern würde. Es wäre damit ein weiterer

Beweis geliefert, daß es sich bei der viel bezweiferten Autolyse um das Wirksamwerden von Fermentresten handelt, welche auch in heiß (bei 80–90°) bereiteten Amyloselösungen noch vorhanden sein müssen, da Diastase nachweislich an den Körnern der Rohstärke haftet und kein Grund vorliegt, diesem Ferment in Hinsicht auf sein Verhalten bei Erwärmung wesentlich andere Eigenschaften zuzuschreiben als der Speicheldiastase; es wäre dann aber auch dem immer wieder geltend gemachten Einwande einer bakteriellen Infektion die Spitze abgebrochen.

Es läßt sich nun in der Tat in einfachster Weise zeigen, daß die Spaltungsgeschwindigkeit einer Amyloselösung bei Zusatz geeigneter Salzlösungen resp. Salzmischungen (wie Speichelasche oder Kochsalz-Phosphatmischungen) durch bloßes Schütteln beider mit Luft ganz außerordentlich beschleunigt wird, so daß die Reaktionszeit unter Umständen auf weniger als $\frac{1}{4}$ der sonst geltenden Werte herabgedrückt wird. Man verwendet am besten eine Mischung von 0,5 g NaCl, 0,2 g NaH_2PO_4 und 0,8 g Na_2HPO_4 auf 100 ccm Wasser. Von dieser Lösung werden etwa 10 ccm unmittelbar vor dem Versuch gekocht und nicht weiter als bis 50° abgekühlt. 1proz. Amyloselösung, die wie immer durch Erhitzen von 1 g Weizenstärke mit 100 ccm Wasser bis 80° und Absetzenlassen hergestellt wurde, wird kurz vor dem Versuch neuerdings auf 80° erhitzt und dann ebenfalls bei 50° gehalten. Mittels einer Pipette werden von beiden Lösungen je 2 ccm entnommen, in einem kleinen Meßbröhrchen noch warm gemischt und sofort etwas Toluol aufgegossen, um Zutritt von Sauerstoff zu verhindern. Hierauf wird die Probe in ein Wasserbad von 45° eingestellt. Die Reste der benützten Phosphat- und Amyloselösung werden nun abgekühlt und mehrere Minuten kräftig mit Luft geschüttelt. Im übrigen wird die Vergleichsprobe ganz in gleicher Weise behandelt wie die erste und dann ebenfalls bei 45° gehalten. *Sie erreicht den achromischen Punkt durchschnittlich in einer Stunde, während die luftfreie Probe zu gleicher Zeit noch rein blau reagiert und dies auch nach Stunden noch tut.* Während also die sauerstofffreie Salzlösung eine ebensolche Amyloselösung auch bei sehr langer Einwirkungszeit kaum beeinflußt, erfolgt bei Vermischung gleicher Mengen derselben, aber vorher mit Luft geschüttelten Lösungen schon in kurzer Zeit eine verhältnismäßig energische Hydrolyse. Daß von Bakterienwirkungen in diesem Falle keine Rede sein kann, wird wohl auch der stärkste Zweifler zugeben. Ganz ähnlich, nur wesentlich träger, verläuft der Versuch auch, wenn man nur einfache 0,5proz. NaCl-Lösung verwendet.

Es soll nicht unerwähnt bleiben, daß Autolyseversuche auch durch Zusatz einer kleinen Menge *Oxyhämoglobinlösung* stark beschleunigt werden. Es ist selbstverständlich, daß zur Herstellung einer solchen nur Hämoglobinkristalle oder eine Lösung von gut ausgewaschenen

Blutkörperchen verwendet werden dürfen, da sonst die Gefahr einer Täuschung durch die Diastase des Serums besteht.

Es erklärt sich nun auch ganz einfach eine andere Tatsache, auf die ich schon vor langer Zeit gestoßen war. Es war mir zuerst bei Versuchen mit Kochspeichel, dann mit Speichelasche und endlich auch mit einfachen oder gemischten Salzlösungen bekannter Zusammensetzung aufgefallen, daß, wenn nach Zusatz von Amylose endlich der achromische Punkt erreicht war und dann durch wiederholte neue Zusätze die fermentative Wirkung der Lösungen erheblich zugenommen hatte, diese durch kurzes Aufkochen sofort vernichtet wurde. Diese beiden Tatsachen, daß erstlich Proben von Kochspeichel und Amylose, wie auch Speichelasche-Amylosegemische an Wirksamkeit zunehmen, wenn der Stärkezusatz mehrfach wiederholt wird, und daß zweitens die neugewonnene diastatische Kraft sofort wieder verloren geht, wenn man solche Lösungen erhitzt, hatten zunächst den Gedanken an eine Fermentneubildung aus dem Substrat aufkommen lassen. Nachdem sich aber in der Folge herausgestellt hatte, daß der Rohstärke (den Stärkekörnern) ähnlich wie dem Gummi arab. Diastase anhaftet, ließ sich die „Autolyse“ der Stärke ungezwungen auf einen relativ thermostabilen Fermentrest beziehen. Mit dieser Auffassung war nur ein Umstand nicht recht in Übereinstimmung zu bringen. Teilt man nämlich eine Autolysenprobe, die durch wiederholte Amylosezusätze allmählich sehr an diastatischer Kraft gewonnen hat, in 2 gleiche Hälften, von denen die eine sofort, die andere aber erst nach Aufkochen der Lösung abermals Amylose zugesetzt erhält, so ist es ausnahmslose Regel, daß die erstere nach kurzer Zeit wieder auf dem achromischen Punkt angelangt ist, während die andere noch zu einer Zeit, wo die gleiche Menge frischer Salzlösung die gleiche Menge Amylose bereits bis zum Verschwinden der Jodreaktion umgesetzt haben würde, blaue Jodreaktion gibt. *Es erfolgt also beim Kochen nicht bloß eine Zurückführung der Salzlösung auf den Status quo, eine Wiederherstellung ihrer ursprünglichen Eigenschaften und Wirkung, sondern sie wird im Vergleich zu ihrer früheren aktivierenden Wirksamkeit minderwertig.* Dies konnte ich dann später ganz direkt dadurch feststellen, daß ich die aktivierende Kraft einer ungekochten und einer gekochten Salzlösung auf vollkommen salzfreie Speicheldiastase unter sonst ganz gleichen Bedingungen verglich (vgl. Fermentforschung 4, 329). Da man nun nicht wohl annehmen kann, daß die gelösten Salze beim Erhitzen irgendwie verändert werden, so wird man unmittelbar auf die Vermutung geführt, daß bei diesen Versuchen das Vorhandensein oder Fehlen von Sauerstoff das Ausschlaggebende ist. Nach den hier mitgeteilten Erfahrungen darf man dies wohl als eine gesicherte Tatsache betrachten.

Die Verbrennungswärme der Milchsäure.

Von
Otto Meyerhof.

(Aus dem Physiologischen und Chemischen Institut der Universität Kiel)¹⁾.

(Eingegangen am 27. Februar 1922.)

Schon zu Beginn meiner Untersuchungen über die Energieumwandlungen im Muskel, deren Resultate an einem anderen Ort veröffentlicht sind²⁾, stellte sich die Notwendigkeit heraus, die Verbrennungswärme der Milchsäure genau zu kennen, für die nur der von *Louguinine* aus dem Äthylester nach Analogie berechnete Wert bisher bekannt ist. Auf meinen Vorschlag hatte sich Herr Prof. *W. A. Roth* (Braunschweig) bereit erklärt, dieselbe in seinem Institut bestimmen zu lassen. Da sich die Ausführung dieser Absicht aus äußeren Gründen einige Zeit verzögerte und die Kenntnis der Verbrennungswärme für meine Untersuchungen immer wichtiger wurde, unternahm ich es selbst, durch vielfache Ratschläge von Herrn Professor *Roth* unterstützt, die Bestimmung wenigstens auf *einem* Wege durchzuführen, während im Institut des Herrn *Roth* das Resultat auf verschiedene Weise und mit möglichster Genauigkeit erreicht werden soll. Insofern sind die folgenden Werte zunächst als vorläufig zu betrachten und könnten eventuell noch etwas korrigiert werden; ich nehme an, daß ihr Endresultat auf -0.3% genau ist.

Louguinine hat die Berechnung der Verbrennungswärme der Milchsäure vorgenommen nach der Formel: Verbrennungswärme des Esters — Verbrennungswärme des Alkohols — 2000 cal = Verbrennungswärme der Säure. Es ergab sich pro Mol 329 509, pro 1 g 3661 cal. Wenn man ohne Analogieschlüsse die Verbrennungswärme kennen lernen will, muß man entweder die reine Säure selbst direkt verbrennen oder ein milchsaures Salz und die nötigen Umsatzwärmen besonders be-

¹⁾ Von den im folgenden beschriebenen Wärmemessungen wurde die Verbrennungswärme des milchsauren Zinks von mir in der physikalisch-chemischen Abteilung des Kieler chemischen Instituts bestimmt. Dem Direktor Herrn Prof. *Diels* bin ich für die Erlaubnis zur Benutzung der Einrichtungen des Instituts, dem Vorsteher der Abteilung Herrn Prof. *Preuner* für Unterstützung mit Rat und Tat zu großem Dank verpflichtet.

²⁾ Pflügers Arch. f. d. ges. Physiol. 182, 185, 188, 191.

stimmen. Auf dem letzteren Wege erhält man ebenfalls vollständig experimentell, wenn auch weniger direkt, die gesuchte Größe. Der erste Weg ist nun aber nicht gangbar. *Krafft* und *Dyes*¹⁾ haben zwar reine kristallisierte Milchsäure dargestellt, dabei aber die Erfahrung gemacht, daß dieselbe sehr schlecht haltbar ist und daß Säure, die durch Destillation wasserfrei gemacht wird, sich hierbei zum Teil in das Anhydrid umwandelt, ehe alles Wasser entfernt ist. Um von der Verbrennungswärme der Salze auf die der reinen wasserfreien Säure zu kommen, müßte allerdings die Lösungswärme dieser letzteren gemessen werden. Indes wird für die Fragen der Muskelenergetik nur die Kenntnis der Verbrennungswärme gelöster verdünnter Säure benötigt. Ich habe daher die Verbrennungswärme bezogen auf diese verdünnte und außerdem auf die käufliche Säure von 70 Volumprozent. Von Salzen wurden einer vorläufigen Prüfung unterzogen das Calcium-, Barium-, Lithium-, Silber- und Zinksalz. Die Verbrennungen wurden mit dem letzteren ausgeführt. Das käufliche Salz $\text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 + 3\text{H}_2\text{O}$ (von Kahlbaum) ist bereits sehr rein. Es wurde aus heißem Wasser umkristallisiert und einige Tage zwischen Filtrierpapier bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Die Reinheit wurde kontrolliert 1. durch Bestimmung des Wassergehaltes, 2. des Zinkgehalts. Innerhalb der Wägegenauigkeit konnten keine systematischen Abweichungen von dem theoretischen Wert entdeckt werden. Hierfür seien die folgenden Belege der Tabelle I gegeben.

Tabelle I.

Vergleich des kristallisierten, des wasserfreien Zinklactats und Zinkoxyds.

Nr.	Kristallisiert g	Gefunden wasserfrei g	Berechnet wasserfrei g	Gefunden ZnO g	Berechnet ZnO g
1	5,921	4,841	4,845	—	—
2	20,775	16,995	17,005	—	—
3	0,9773	—	—	0,2653	0,2668
4	—	—	0,2996	0,1000	0,1000
5	—	—	0,4710	0,1560	0,1572
6	—	—	0,3795	0,1265	0,1267

Bereits bei den ersten Verbrennungen, die im übrigen noch keine brauchbaren Werte gaben, stellte sich heraus, daß als Endprodukt der Verbrennung nicht, wie zuerst erwartet wurde, Zinkcarbonat, sondern Zinkoxyd auftrat, daß also die Reaktion nach der Gleichung verläuft $\text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 + 6\text{O}_2 = \text{ZnO} + 6\text{CO}_2 + 5\text{H}_2\text{O}$. In der Tat

läßt sich nach der Formel von *le Chatelier* $T^{(\text{diss})} = \frac{Q^{(\text{diss})}}{32} - {}^2) [T^{(\text{diss})}]$

¹⁾ Ber. d. chem. Gesellsch. **28**, 2589. 1895.

²⁾ *Pollitzer*, Berechnungen chemischer Affinitäten nach dem *Nernstschen* Wärmetheorem, chem.-techn. Vorträge. Enke, Stuttgart 1912.

Dissoziations-temperatur in absoluter Zählung, Q (diss) Dissoziations-
wärme] berechnen, da Q (diss) für $\text{ZnCO}_3 = \text{ZnO} + \text{CO}_2 = 15\,400$ cal ist,
daß T (diss) $= -\frac{15\,400}{32} = 482^\circ$ abs. $= 209^\circ$ (gegenüber 1 Atm. CO_2) ist.

Die Temperatur bei der Verbrennung ist aber natürlich viel höher. Daß
nun das Endprodukt tatsächlich ausschließlich Zinkoxyd ohne Verun-
reinigung mit Carbonat ist, wurde dadurch kontrolliert, daß nach jeder
Verbrennung ein Teil des Verbrennungsproduktes ausgeschüttet, einen
Tag lang über Schwefelsäure bei Zimmertemperatur im Vakuum ge-
trocknet, dann gewogen und geglüht wurde. Die Gewichtsabnahme ist
annähernd Null, die minimale Änderung um 1 mg kann auf adhäreren-
des Wasser bezogen werden. Von den 5 letzten Verbrennungen sind die
Werte in Tabelle II bezeichnet.

Tabelle II.

Nr.	ZnO vor Glühen	ZnO nach Glühen
	g	g
1	0.304	0.304
2	0.285	0.284
3	0.171	0.170
4	0.2905	0.289
5	0.269	0.269

Damit ist der Weg, auf dem die Verbrennungswärme zu bestimmen
war, vorgezeichnet. Zur Ermittlung dienten neben einigen sonstigen
Kontrollmessungen die folgenden 5 Reaktionen:

- I. $\text{Zn} (\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 (\text{fest}) + 6 \text{O}_2 = \text{ZnO} (\text{fest}) + 6 \text{C}_2\text{O} (\text{gasfr.}) + 5 \text{H}_2\text{O} (\text{flüss.}).$
- II. $2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 (\text{konz.}) + \text{aq} = 2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 \text{ aq.}$
- III. $2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 \text{ aq} + \text{ZnO} (\text{fest}) = \text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 \text{ aq} + \text{H}_2\text{O} (\text{flüss.}).$
- IV. $\text{Zn} (\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 \text{ aq} + 2 \text{HCl aq} = \text{ZnCl}_2 \text{ aq} + 2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 \text{ aq.}$
- V. $\text{Zn} (\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3) (\text{fest}) + 2 \text{HCl aq} = \text{ZnCl}_2 \text{ aq} + 2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 \text{ aq.}$

Addieren wir die ersten 4 Gleichungen und ziehen V. ab, so fallen
alle Größen außer den fettgedruckten heraus und wir erhalten die
Wärmetönung der Reaktion $2 \text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3 (\text{konz.}) + 6 \text{O}_2 = 6 \text{CO}_2 (\text{gasf.})$
 $+ 6 \text{H}_2\text{O} (\text{flüss.}).$

Warum gerade dieser Weg gewählt ist, ist im folgenden bei den
Messungen angegeben.

I. Die Verbrennungswärme des milchsauren Zinks.

Zu den Verbrennungen diente die *Berthelotsche* Bombe des Chemi-
schen Instituts (System Dr. *Kröcker*), deren Eichwert zuerst durch
Verbrennung von Benzoesäure und Rohrzucker (Mercks und Kahl-
baums Präparate von bestimmter Verbrennungswärme) bestimmt wurde,
zur Messung der Temperatur wurde ein geprüftes Beckmannthermometer
benutzt. Da die ersten Eichungen mit einer Wasserfüllung von 2500 ccm
geschahen, die späteren genaueren und ebenso die Verbrennungen

des Zinksalzes mit 2300 ccm, habe ich die Gradwertkorrektur des Thermometers in Rechnung gezogen. Die angegebenen Zahlen für den korrigierten Temperaturanstieg sind bereits außer für Kalibrierkorrektur auch für den Gradwert umgerechnet (alle Messungen geschahen zwischen 10° und 16° , Gradwert 1,005). Die ersten Verbrennungen zur Eichung waren weniger genau, vor allem wegen der Verwendung von Eisendraht zur Zündung. Da es schwer feststellbar war, wieviel davon jeweils in Eisenoxyd verwandelt war, wurde die willkürliche Annahme gemacht, daß die Hälfte des abgeschmolzenen Drahtes aus Fe_2O_3 bestand. Da von dem 0,015 g wiegenden Draht meist $\frac{2}{3}$ abschmolzen, wurden 8—9 cal für Fe_2O_3 in Rechnung gestellt (Verbrennungswärme 1610 cal). Von den auf diese Weise gemachten 5 Eichungen wird für die endgültige Berechnung des Eichwertes nur der Mittelwert benutzt, der übrigens von dem Mittelwert der folgenden 3 genauen Eichungsbestimmungen nur um 1 cal abweicht. Die 3 genauen Eichungsmessungen und ebenso alle endgültigen Verbrennungen des Zinksalzes wurden mit Platindrahtzündung gemacht. Dazu wurde etwas abweichend von dem üblichen Verfahren dünner Platindraht (5 cm wogen etwa 0,010 g) ebenso wie sonst der Eisendraht in die zu verbrennende Pastille eingepreßt und mit einem Strom von 6 Volt Spannung gezündet, der den Draht sofort zum Durchschmelzen brachte. Das Amperemeter schlug höchstens bis 2 Ampere aus; es wurden 2 cal für die Stromwärme in Anrechnung gebracht. Unter diesen Umständen gelang eine sichere Verbrennung, wenn nach dem Vorschlag von *Stohmann* zur Initialzündung ein dünnes Kolloidumplättchen von etwa 2 mg auf die Pastille gelegt wurde (Verbrennungswärme 2780 cal pro 1 g). Die auf diese Weise durchgeführten Eichungen ergeben eine vorzügliche Übereinstimmung sowohl unter sich wie mit dem Mittelwert der vorläufigen Eichungsmessungen. Die Resultate sind in der Tabelle III angeführt. Für Salpetersäure brauchte keine Korrektur angebracht zu werden, da der Bombensauerstoff offenbar stickstofffrei war und die Bombe vor dem Schluß längere Zeit damit durchspült wurde. Es ergaben sich stets Salpetersäurewerte unter 1 cal. In allem sonstigen wurde nach den üblichen Vorschriften verfahren¹⁾. Die Rechnung für den Temperatenausgleich geschah nach der *Rothschen* Angabe.

Als Verbrennungswärme für Rohrzucker wurde 3952 cal, für Benzoesäure 6325 cal angenommen. Für die in Luft gewogenen Substanzen bleiben diese Werte nach einer Mitteilung von Herrn Prof. *Roth* auch auf Grund der neuen Diskussion von *Henning*²⁾ fast genau richtig.

¹⁾ Siehe *Roth*, Physikal.-chem. Übungen, 2. Aufl., S. 83, ferner *Hari* und *Weiser*, *Aberhaldens Handb. d. biochem. Arbeitsmethoden* I, S. 658.

²⁾ *Zeitschr. f. physik. Chem.* **97**, 567. 1921.

Tabelle III.

Eichung des Calorimeters.

Nr.	Substanz B. Benzoesäure S. Saccharose	Gewicht g	Benutzte Wasser- menge ccm	Korr. Temp. anstieg C	Be- rechn. cal	cal für Kollod.	Korr. cal	Gesamt- wasser- wert	Daraus Wasser- wert des Calori- meters
1	B.	0.6876	2494	1.534	4347	—	4355	2838	344
2	B.	0.5254	2482	1.176	3322	—	3330	2830	348
3	S.	1.2642	2502	1.753	4995	—	5004	2853	351
4	S.	0.9798	2486	1.382	3872	—	3881	2808	322
5	S.	1.4557	2292	2.174	5753	—	5761	2648	356
Durchschnitt 1—5									344
6	S.	1.2751	2310	1.9015	5043	7.0	5052	2656	346
7	B.	0.6170	2321	1.466	3900	5.4	3908	2664	343
8	S.	0.9397	2298	1.4075	3714	5.4	3722	2644	346
Durchschnitt									345

Da obendrein für die Fragen der Muskelenergetik vor allem der Vergleich der Verbrennungswärme der Milchsäure mit der des Glykogens von Wichtigkeit ist und die letztere von *Stohmann* unter Zugrundelegung der älteren Zahlen bestimmt ist, ist von weiterer Umrechnung abgesehen.

Der exakten Verbrennung des milchsauren Zinks stellten sich zuerst große Schwierigkeiten in den Weg. Das krystallisierte Salz verbrannte nicht in meiner Anordnung. Es mußte das bei 105—110° getrocknete wasserfreie Salz verwandt werden. Dieses ist außerordentlich hygroskopisch. Das hatte, abgesehen von der Gefahr falscher Wägung, auch noch den Übelstand im Gefolge, daß die Lösungswärme sich erheblich verringerte, sobald auch nur ganz wenig Wasser aufgenommen war; z. B. ein Präparat, das einige Tage im Zimmer in einer mit einer Glasplatte bedeckten Schale gestanden hatte, zeigte statt der sonstigen Lösungswärme von etwa + 7000 cal pro Mol schon eine geringe negative Lösungswärme, während das krystallisierte Salz eine negative Lösungswärme von — 4000 cal besitzt. Es genügte demnach nicht, die Pastille vor der Wägung noch einmal zu trocknen, sondern es mußte auch die Einfüllung von Wasser in die Bombe unterbleiben, damit nicht die Verbrennungswärme um einen gewissen Teil der Hydratationswärme sich verringerte. Dafür mußte für die Verdampfung des bei der Verbrennung gebildeten Wassers bei 300 ccm Bombeninhalte, 15°, bis zur Sättigung, d. h. für 4 mg Wasser die Verdampfungswärme = — 2,4 cal als Korrektur angebracht werden. Sie wurde gegen die Zündungswärme mit Platindraht, die zu 2 cal angenommen wurde, aufgerechnet. Ein letzter wohl nicht erheblicher Fehler, der in dem Feuchtigkeitsgehalt des zur Füllung benutzten Sauerstoffs liegt, ließ sich allerdings nicht

beseitigen. Um etwaige Wägungsfehler durch Wasseraufnahme zu kontrollieren und zu vermeiden, wurde bei den endgültigen Verbrennungen erstens ein Teil des benutzten Zinksalzpräparates abgewogen und in einer *Volmerschen* Pumpe bei 0,7 mm Hg über P_2O_5 1 Stunde bei 100° erhitzt. Es änderte sich das Gewicht dabei nur von 1,209 g auf 1,2085 g. Zweitens wurde die fertige Pastille nach Wägung nochmals $\frac{3}{4}$ Stunde auf 110° erhitzt; in einem Versuch (4. der Tabelle IV) statt dessen im Vakuum auf 100° ; sofort nach dem Erkalten im Exsiccator gewogen und verbrannt. Durch das nachträgliche Erhitzen nahm das Gewicht der Pastille stets um mehrere Milligramm ab, bei weiterem 3stündigen Erhitzen auf 110° aber nur noch um etwa 0,5 mg, was bei der starken Hygroskopizität schon in die Wägegenauigkeit fällt. Das bestimmte Gewicht, berechnet auf reines wasserfreies Zinklactat, ist jedenfalls auf mindestens 1 mg, bei der benutzten Menge etwa $1\frac{0}{100}$ genau.

Außer diesem ergab sich zunächst noch ein anderes ernstes Hindernis für exakte Verbrennungen, indem ein kleiner Rest des Lactats, dort, wo die Hauptmasse des Zinkoxyds auf den Tiegel niederfiel, nicht völlig verbrannte, sondern einen Kohleleck hinterließ. Da dies von unzureichender Sauerstoffversorgung herrühren mußte, indem der Niederschlag die Bodenschicht bedeckte, ersetzte ich den Tiegel durch ein engmaschiges Platindrahtnetz, das ich in den ersten derartigen Versuchen auf dem Boden der Bombe, gestützt auf Glasröhren, ausbreitete. In der Tat verbrannte der Niederschlag, wo er auf das Netz fiel, jetzt vollständig. Doch trat ein geringer Kohleleck auf, falls zufällig ein Klumpen Zinkoxyds an die Bombenwand geschleudert wurde. Erst als durch einen Fehler das Platindrahtnetz so zerriß, um den Boden der Bombe nicht mehr ausfüllen zu können, kam ich auf die richtige Anordnung, die ein fehlerloses Verbrennen ohne jede Andeutung von Verkohlung ermöglichte. Das Platindrahtnetz wurde trichterförmig in den Tiegel gesteckt und dieser unmittelbar unter die Pastille geschoben. Deren Gesamtmasse fiel jetzt bei der Verbrennung in das Netz hinein; abgesehen von einem fein versprühenden Teil, der ebenso vollständig verbrannte. Während 4 Verbrennungen mit der noch nicht ganz tadellos funktionierenden Anordnung des am Boden liegenden Netzes und übrigens auch mit Pastillen, die nur bei Zimmertemperatur im Vakuum über Schwefelsäure nachgetrocknet waren, pro 1 g Zinklactat 2586, 2583, 2576, 2582 cal ergaben, wurden mit der endgültigen fehlerlos funktionierenden Netzanordnung und mit bei 100 — 110° nachgetrockneten Pastillen die Verbrennungswärmen 2596, 2601, 2595, 2596 cal erhalten. Diese 4 endgültigen und wie ich denke fehlerfreien Versuche sind in der Tabelle IV aufgeführt. Der Durchschnitt ist 2597 cal für 1 g wasserfreies Zinksalz.

Tabelle IV.

Endgültige Bestimmungen der Verbrennungswärme des Zinklactats.

Nr.	Gramm	mg Kollo- dium	Benutzte Wasser- menge	Wasser- wert	Korr. Tempe- raturanstieg - C	cal gebildet	cal nach Korrektur für Koll.	Pro 1 g Zink- salz cal gebildet
1	1,0097	0,0014	2280	2625	1,000	2625	2621	2596
2	1,1462	0,0025	2306	2651	1,1285	2988	2981	2601
3	1,1447	0,0026	2305	2650	1,1235	2977	2970	2595
4	1,0115	0,0016	2293	2638	0,997	2630	2626	2596

Durchschnitt: **2597****II. Verdünnungswärme der Milchsäure.**

Die Verdünnungswärme der Milchsäure und ebenso der Umsatz des gelösten Zinklactats mit Salzsäure nach Gleichung IV wurde teilweise in einem 80 ccm fassenden 3wandigen Dewargefäß, teilweise in einem doppelwandigen von 240 ccm Inhalt bestimmt, die sich in einem genau regulierten Thermostaten befanden (20°). Die konzentrierte Milchsäure hing in einer verkürzten 2 ccm-Pipette im Gefäß; in einzelnen Fällen wurde auch eine 2,5 ccm-Pipette, die nach oben umgebogen war, benutzt. In der geraden 2 ccm-Pipette wurde ein spontanes Auslaufen dadurch verhindert, daß sie nicht nur oben mit Schlauch und Quetschhahn verschlossen wurde, sondern auch die Mündung leicht angefettet war. Nach dem Temperatenausgleich im Thermostaten, der mindestens 1 Stunde währte, wurde der Quetschhahn entfernt und der Pipetteninhalt durch Wasserstoff aus dem Kippschen Apparat herausgedrückt; gleichzeitig diente der nachströmende Wasserstoff zur Rührung. Die gemessenen Temperaturanstiege konnten ohne Korrektur für Wärmeausgleich benutzt werden. Der Wasserwert der Gefäße mit Thermometer in der Versuchsanordnung, der schon früher bestimmt war, betrug für das kleinere 10, für das größere 18. Die Säurekonzentration wurde nachträglich durch Titration mit Phenolphthalein ermittelt. Bestimmt wurde außer der Verdünnungswärme der 70 proz. Säure auch die von weitergehenden Verdünnungen, woraus sich die Wärmetönung für die einzelnen Konzentrationsstufen annähernd berechnen ließ. Die Resultate sind in Tabelle V angeführt.

Bei Verdünnung der 74 proz. Säure auf 120faches Wassergewicht treten also 14,1 cal auf. Dieser Wert wird für Milchsäure (konz.) → Milchsäure (aq) angenommen, er entspricht etwa einer Verdünnung bis zu $n/_{10}$. Aus Versuch 5 und 6 im Vergleich zu 1 und 2 berechnet sich ungefähr die Verdünnung von 1 g 74 proz. Säure mit 1,2 ccm Wasser auf 35% zu 5,0 cal; die weitere Verdünnung mit 2,6 Wasser auf 16,4% zu 3,4 cal, die weitere mit 4 Wasser auf 9% zu 1,65 cal. Die totale Verdünnungswärme der 9 proz. Säure (n) beträgt pro g 4,1 cal, während sich aus 1 und 2 im Vergleich zu 3 und 4 schätzungsweise für die weitere Ver-

Tabelle V.
Verdünnungswärme der Milchsäure.

Nr.	Säure- lösung ccm	Enthaltend titrierbare Säure g	Vol- proz. Säure	Verdünnt auf Wasser- menge	Tempe- ratur- anstieg ° C	Wasser- wert	cal gebildet	cal pro 1 g Milchs.	1 g Säure in g Wasser ver- dünnt auf g Lösung
1	2,0	1,83	74	220	0,110	238	26,2	14,2	0,26 : 120
2	2,0	1,82	74	219	0,107	237	25,4	14,0	0,26 : 120
3	1,6	1,43	73	67	0,245	77	18,8	13,1	0,3 : 47
4	2,0	1,78	72	80	0,248	90	22,3	12,6	0,32 : 45
5	2,0	0,88	35	230	0,031	248	7,7	8,7	1,5 : 260
6	2,0	0,84	34	224	0,034	242	8,2	9,8	1,6 : 270
7	2,0	0,403	16,5	65	0,031	75	2,32	5,75	4,2 : 18,5
8	2,0	0,182	9,1	73	0,009	83	0,75	4,1	8,2 : 400

dünnung von 4proz. Säure 1,5 cal ergibt. Wenn wir die Wärmetönung der Reaktion II pro 1 g Säure zu 14,1 cal rechnen, pro 2 Mol Milchsäure also gleich 2520 cal, so sollten die Umsätze mit Milchsäure aq in Gleichung III, IV und V mit n_{10} -Milchsäure geschehen. Das war meist auch ungefähr der Fall. Nur in einzelnen Fällen wurde eine Konzentration von etwa $n_{1/2}$ verwandt. Dafür hätten dann eigentlich 2 cal pro 1 g Milchsäure abgezogen werden sollen. Für das Endresultat hat das aber kaum eine Bedeutung.

Nach der Feststellung von Herrn *Roth* enthält die käufliche 74proz. Säure merkliche Mengen Anhydrid. Der hier gemessenen Verdünnungswärme kommt somit theoretisch keine besondere Bedeutung zu. Da die Umsetzungen von III, IV, V mit verdünnter Säure gemacht werden, und es für die Energiebilanz des Muskels auch nur auf die Verbrennungswärme der verdünnten Säure ankommt, kann man das Ergebnis dieses Abschnitts vernachlässigen.

III. Neutralisation festen Zinkoxyds mit Milchsäure.

Für diese Versuche diente eine Anordnung entsprechend *Roths* Praktikum¹⁾. In einem 4wandigen zylindrischen Dewargefäß von 120 ccm Fassungsraum, das in der Versuchsanordnung mit Thermometer einen Wasserwert von 16 besaß, befanden sich genau 100 ccm verdünnte Milchsäure im Überschuß über Zinkoxyd. Durch den Korken war außer Thermometer und Rührer ein dünnwandiges Reagensglas mit Glasstab gesteckt, in dem sich das abgewogene Zinkoxyd befand. Nach Temperatúrausgleich (mindestens 20 Minuten) wurde der Boden des Reagensglases mit dem Glasstab durchstoßen. Berechnung des Wärmeausgleichs geschah wie üblich. Das Zinkoxyd war vorher kräftig geglüht, um Hydroxyde und Carbonate zu zerstören. Das Ergebnis ist in Tabelle VI enthalten. Die spezifische Wärme der 5proz. Säure in Versuch

¹⁾ S. 71 ff.

1—3 ist wahrscheinlich etwas zu klein zu 0,96 angenommen. Dieser Fehler hebt sich aber gegen den anderen ungefähr heraus, daß die Verdünnungswärme der 5proz. Säure auf 0,9proz. nicht berücksichtigt worden ist. Im Durchschnitt ergibt sich 285 cal pro 1 g Zinkoxyd oder pro Mol entsprechend Gleichung III 23 180 cal.

Tabelle VI.

Neutralisation von festem Zinkoxyd mit Milchsäure.

Nr.	g ZnO	Milchsäure- konzentration %	Wasser- wert	Korrigierter Temperatur- anstieg	cal gebildet	cal pro 1 g
1	0,130	5,0	111	0,338	37,5	289
2	0,130	5,0	112	0,337	37,8	291
3	0,130	5,0	112	0,3265	36,6	282
4	0,200	0,9	116	0,480	55,7	279
5	0,293	0,9	116	0,711	82,4	283

Durchschnitt: 285

Da sich entsprechend der Gleichung IV keine meßbare Wärmetönung ergibt (höchstens eine negative von 100—200 cal. pro Mol), so sollte die Neutralisation des Zinkoxyds mit verdünnter Salzsäure denselben Wert ergeben wie mit verdünnter Milchsäure. In der Tat wurde in einem Versuch, bei Lösung von 0,265 g Zinkoxyd in 100 ccm $\frac{n}{10}$ -Salzsäure 73,0 cal, pro 1 g 276 cal, pro 1 Mol 22 400 cal gefunden. Bei mehrfacher Wiederholung würde die Übereinstimmung wohl noch besser sein.

IV. u. V. Die Lösungswärme des wasserfreien Zinklactats in Wasser bzw. Salzsäure.

Prinzipiell hätte es genügt, direkt die Lösungswärme des wasserfreien Zinklactats in Wasser zu messen, denn mit der Gleichung $\text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2$ (fest) + aq = $\text{Zn}(\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2$ aq ist der Kreis geschlossen, und man erhält durch Subtraktion der Gleichung von den 3 vorherigen die Verbrennungswärme der Milchsäure. Die absolute Löslichkeit ist auch hinreichend, sie beträgt in der Kälte etwa 1,5%. Doch löste sich das Präparat, mit dem ich die ersten derartigen Versuche anstellte, welches wiederholt bei 110° getrocknet war, so außerordentlich langsam, daß die Bestimmung zu ungenau ausfiel. Ich wählte deshalb den Umweg über Zinkchlorid, indem ich den Umsatz gelösten Zinklactats in verdünnter Salzsäure und die Lösung festen Lactats in Salzsäure bestimmte. Die Differenz beider Wärmen ergibt die Lösungswärme des Zinklactats in Wasser. Tatsächlich hat die erste Reaktion keine meßbare Wärmetönung und so muß die Lösungswärme in verdünnter Salzsäure gleich der in Wasser sein. Nachträglich machte ich einige direkte Bestimmungen mit einem sehr feinpulverigen und weniger häufig erhitzten Präparat,

das sich ziemlich gut in Wasser löste, so daß der Umweg eigentlich nicht unbedingt nötig gewesen war. Die Versuche dieses Abschnittes sind die relativ am wenigsten genauen, deren Mittelwert leicht eine Ungenauigkeit von 10% besitzen kann, was sich als 1⁰/₀₀ im Endresultat geltend macht. Einmal ist das Zinklactatpulver so locker, daß es in der Anordnung entsprechend Nr. III nicht ganz ohne Verlust gelöst werden kann, dann ist auch die Lösung mit Salzsäure keine ganz rasche; die Hauptsache ist aber, daß die starke Hygroskopizität, wie schon in Kap. I berührt, bei der Lösungswärme unmittelbar in Betracht kommt. Ich verwandte dieselben Präparate wie für die Verbrennungen und sie wurden auch hier entweder unmittelbar vor der Benutzung nochmal auf 105—110° erhitzt oder wenigstens nach dem Erhitzen luftdicht aufbewahrt, dann rasch gewogen und in das Reagensglas gefüllt.

Bei Zusatz von 2 ccm n-HCl zu 1⁰/₀ gelöstem Zinklactat im Thermo-
staten (entsprechend Anordnung II) trat in 3 Versuchen nur ein Temperaturanstieg von 0,0005°, 0,004°, 0,0025° auf bei 77 Wasserwert. Die angedeutete positive Wärmetönung von etwa 0,2 cal im Durchschnitt entspricht ungefähr der Verdünnungswärme der Salzsäure oder ist ein wenig geringer. Dieser Wert wurde daher gleich Null gesetzt. In der folgenden Tabelle VII sind nun unter Weglassung einer größeren Zahl weniger zuverlässiger Messungen die 4 genauesten Bestimmungen der Lösungswärme in Salzsäure und 3 ebensolche in Wasser angeführt, wovon wiederum die erste (Nr. 5) wegen verhältnismäßig großer Temperaturkorrektur eingeklammert und bei der Rechnung des Durchschnittswertes nicht berücksichtigt ist. Als Gesamtdurchschnitt ergibt sich pro 1 g Zinklactat 27,8 cal oder 6800 cal pro 1 Mol. Da die Gleichung abgezogen, bzw. in umgekehrter Richtung geschrieben werden muß, erhalten wir, entsprechend der Abscheidung von festem wasserfreien Zinklactat aus der Lösung, 6800 cal.

Tabelle VII.
Lösungswärme von festem Zinklactat.

Nr.	Lösung in	Zinklactat g	Wasserwert	Korrigierter Temperatur- anstieg	cal gebildet	cal pro 1 g	cal pro 1 Mol.
1	HCl	0,40	116	0,099	11,5	28,8	7020
2	HCl	0,438	116	0,112	13,0	29,7	7240
3	HCl	0,45	116	0,100	11,6	25,8	6250
4	HCl	0,59	116	0,134	15,55	26,6	6480
Durchschnitt:						27,4	6750
5	d. W.	0,487	118	0,125	14,8	(30,8)	(7500)
6	d. W.	0,47	116	0,111	12,9	27,5	6680
7	d. W.	0,51	116	0,130	15,1	29,6	7210
Durchschnitt:						28,6	6950

1—3 ist wahrscheinlich etwas zu klein *et* pro 2 Mol Milchsäure:

Fehler hebt sich aber gegen den an $\text{Zn (fest)} + 6 \text{ CO}_2 \text{ (gasf.)} +$

Verdünnungswärme der 5proz. Sä = 632 540

worden ist. Im Durchschnitt $\text{H}_2\text{O (aq.)} = 2 520$

oder pro Mol entsprechend $\text{Zn(C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 \text{ aq} + \text{H}_2\text{O (flüss.)} . . . = 23 180$

$\text{aq} = \text{ZnCl}_2 \text{ aq} + 2 \text{ C}_3\text{H}_5\text{O}_3 \text{ aq} = 0$

$\text{Zn (C}_3\text{H}_5\text{O}_3)_2 \text{ (fest)} + 2 \text{ HCl aq} = 6 800$

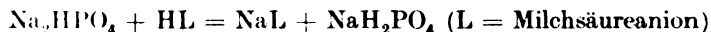
Summa cal 651 440

Neutralisa⁴

Nr. g ZnO

- 1 0.1
- 2 "
- 3 "
- 4 "
- 5 "

konz. = 74^o), also 325 720; pro 1 g 3615 cal. Der Wert für konzentrierte Säure ist mit 3601 cal. Der Wert für konzentrierte Säure ist immer als der von *Louguinine* berechnete. Immerhin Unterschiedes daher rühren, daß die Formel dieses Salzes nicht genau ist. Die Verbrennungswärme der festen kristallisierten Säure ergeben die Verbrennungswärme unbekannt ist. Für die Frage der Muskelkontraktion kommt es aber gerade auf die Verbrennungswärme der verdünnten Säure an und der Unterschied, den wir gegenüber der bisher angenommenen Zahl dafür finden, fällt sehr erheblich ins Gewicht. Das folgende Resultat zeigen, das hier nur angedeutet sei, während einer gleichzeitig erscheinenden Arbeit in Pflügers Archiv genauer festgestellt worden ist. Die arbeitliefernde chemische Reaktion bei der Kontraktion beruht, wie ich nachweisen konnte, in der Spaltung des Glykogens in Milchsäure, welche sich dann in bestimmter Weise mit dem Muskeleiweiß umsetzt. Es gelang mir, diesen letzteren Vorgang auszuschalten und die Reaktion so zu leiten, daß aus dem im Muskel präformierten sowie aus zugesetztem Glykogen Milchsäure entsteht, welche in die als Suspensionsflüssigkeit dienende Natriumphosphatlösung übertritt und sich mit dieser nach der Gleichung



umsetzt. Hierbei treten im Durchschnitt 201 cal pro 1 g Milchsäure auf (6 Versuche zwischen 180 und 219 cal). Für den Umsatz verdünnter Milchsäure in Natriumbiphosphat fand ich pro 1 g 19 cal. *Stohmann* bestimmte als Verbrennungswärme des Glykogens pro 1 g 4191 cal; für 0.9 g Glykogen, die 1 g Milchsäure bilden, also 3772 cal. Die Differenz gegen den von mir bestimmten Wert für verdünnte Säure beträgt somit 171 cal. Dazu kommen 19 cal. Umsatzwärme mit Phosphat = 190 cal. Das ist innerhalb der Fehlergenauigkeit übereinstimmend mit dem direkt gefundenen Durchschnittswert von 201 cal. Dagegen ergab der Wert von *Louguinine* für die Spaltungswärme des Glykogens in Milchsäure 111 cal.; mit diesem wären bei der beschriebenen Reaktion in der Muskulatur 60 cal unerklärt geblieben.

Refraktometrische Untersuchungen über die Reaktionen zwischen isolierten Krebszellen und Blutserum.

II. Mitteilung.

Von

Robert Koritschoner.

(Aus der Prosektur der Krankenanstalt Rudolfstiftung in Wien.)

(Eingegangen am 10. Februar 1922.)

Gemeinsam mit *O. Morgenstern*¹⁾ habe ich eine Reihe von refraktometrischen Untersuchungen mitgeteilt, die die Reaktionen zwischen isolierten Krebszellen und Blutserum (*Freund-Kaminersche* Reaktion) betrafen. Die Methode gestaltete sich folgendermaßen:

Die erforderlichen Blutmengen werden durch Venenpunktion nüchternen Patienten entnommen und nach erfolgter Gerinnung noch mehrere Stunden im Eisschrank aufbewahrt. Dadurch sollen etwa durch Nachgerinnung bedingte Fehlerquellen ausgeschaltet werden. Dann wird das abpipettierte Serum bis zur völligen Entfernung noch suspendierter roter Blutkörperchen zentrifugiert, da diese die Ablesung im Refraktometer erschweren. Die für die Versuche erforderlichen Carcinomzellen werden aus Leichenmaterial, im wesentlichen nach den Vorschriften von *Freund* und *Kaminer* gewonnen.

Tunlichst gut erhaltene Carcinometastasen werden zu etwa nußgroßen Stücken zerkleinert und durch eine vierfache Lage von beutelförmig gefalteter hydrophiler Gaze in eine Lösung von 10 g NaH_2PO_4 + 6 g NaCl + 1000 g H_2O gepreßt. Fast alles Bindegewebe und Organgewebe bleibt hierbei in der Gaze zurück. Die Suspension der Zellen wird dann in ein Standgefäß gefüllt und im Eisschrank durch ungefähr 12 Stunden in Berührung mit der Natriumhydrophosphatlösung gelassen. Dabei sedimentieren die Zellen. Die überstehende Flüssigkeit wird abgehebert und durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Dann werden die Zellen durch kräftiges Schütteln in der Kochsalzlösung gleichmäßig verteilt und neuerlich im Eisschranke absetzen gelassen. Dies wird 4—6 mal wiederholt, so lange, als die Kochsalzlösung noch blutig tingiert erscheint. Die derart vorbehandelten Zellen werden schließlich in ihr vierfaches Volumen bei Zimmertemperatur gesättigter Kochsalzlösung eingetragen und in einer verschlossenen Flasche aufbewahrt. Durch das Konservieren mit gesättigter Kochsalzlösung konnten die Zellpräparate bis zu 7 Monaten verwendet werden.

Für die einzelnen Versuche wird jene Zellmenge verwendet, die in 1 ccm des gut durchgeschüttelten Flascheninhaltes enthalten ist.

¹⁾ Diese Zeitschrift **104**, 259. 1920.

In zwei schmale, etwa 4 ccm fassende, sterile Eprouvetten wird je 1 ccm dieser Suspension von Carcinomzellen in gesättigter Kochsalzlösung eingetragen und mit so viel physiologischer Kochsalzlösung versetzt, daß die Eprouvetten bis einige Millimeter unterhalb des Randes gefüllt sind. Dann wird der Eprouvetteninhalt durchgeschüttelt, ungefähr 10 Minuten stehen gelassen, zentrifugiert, die überstehende Flüssigkeit abgegossen und neuerlich durch physiologische Kochsalzlösung ersetzt. Diese Prozeduren werden viermal wiederholt. Nach dem letzten Zentrifugieren wird die Waschflüssigkeit möglichst vollständig durch Abtropfenlassen aus den Eprouvetten entfernt und hierauf zu den Zellen in die eine Eprouvette 1 ccm 0,85 proz. Kochsalzlösung, in die zweite 1 ccm Serum zugefügt. Eine dritte Eprouvette wurde nur mit 1 ccm Serum beschickt. Dann werden die drei Eprouvetten mit gut schließenden Kautschukstopfen verschlossen, durchgeschüttelt, zum Ausgleich osmotischer Druckverhältnisse etwa 15 Minuten stehengelassen und hierauf zentrifugiert. Aus den Seris werden einige Tropfen mit frisch ausgezogenen Glascapillaren zur refraktometrischen Bestimmung entnommen.

Der Eprouvetteninhalt wird dann gut durchgeschüttelt und in den dicht abgeschlossenen Eprouvetten durch 24 Stunden bei 20–22° gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit wird zentrifugiert und die Ablesung im Refraktometer in der gleichen Weise wieder vorgenommen. Anfangs- und Endablesung wurden bei derselben Temperatur ausgeführt. Aus den im Refraktometer abgelesenen Skalenteilen läßt sich der Brechungsindex mit Hilfe von Tabellen leicht berechnen. Es wurde jedoch darauf verzichtet, da es bei den Versuchen nur auf die Änderung des Brechungsvermögens ankommt und da es gleichgültig ist, ob diese Änderung in Hunderttausendsteln des Brechungsindex oder in abgelesenen Skalenteilen ausgedrückt wird.

Dieser Verzicht ermöglicht es, die Messungen statt bei 17,5°, auf welche die Anwendbarkeit der dem Refraktometer beigegebenen Umrechnungstabelle beschränkt ist, bei einer beliebigen Temperatur auszuführen. Es wird daher als Ablesungstemperatur jeder Serie die bei der Erstablesung herrschende Zimmertemperatur gewählt. Die Konstanz der Temperatur während der Ablesung wird durch Einhängen des Refraktometers in eine etwa 10 l fassende Glaswanne gesichert. Dieses Wasserbad wird mit einem Rührer versehen, die Temperatur ständig bis auf Zehntelgrade kontrolliert und durch Zugießen von kaltem oder warmem Wasser konstant gehalten. Als Lichtquelle dient eine nahe vor die Wanne gestellte mattierte, starke Glühlampe.

Die Glasteile des Refraktometers nehmen in weniger als 20 Minuten die Badetemperatur an, und es wird daher ungefähr nach dieser Zeit die Ablesung vorgenommen.

Bei jedem Versuche wird die Änderung des Brechungsvermögens an den Reaktionssystemen: Serum, präparierte Carcinomzellen + physiologische Kochsalzlösung, Carcinomzellen + Serum bestimmt.

Die in dem System Serum + präparierte Carcinomzellen ermittelte Änderung des Brechungsvermögens setzt sich aus den durch Nebenreaktionen bedingten, gesondert meßbaren Komponenten und aus einer auf die Reaktionen des Serums mit den Carcinomzellen zurückführbaren Komponente zusammen. Um aus der experimentell bestimmten Gesamtänderung des Brechungsvermögens im System Serum + Carcinomzellen jenen Anteil zu ermitteln, der durch die Reaktionen zwischen dem Serum und den Carcinomzellen bedingt ist, muß man daher von der abgelesenen Gesamtänderung die durch Nebenreaktionen hervorgerufenen Änderungen algebraisch subtrahieren.

Ich möchte zur Ergänzung dieser Methodik noch auf einen kleinen Handgriff hinweisen, der sich bei der andauernden Beschäftigung mit

dem Refraktometer als nützlich erwiesen hat. Das Hilfsprisma des Eintauchrefraktometers von Zeiss weist auf der der schiefen Glasebene aufzusetzenden Fläche eine seichte, prismatische Vertiefung auf, die den Zweck verfolgt, daß immer die gleiche Menge Flüssigkeit zur Untersuchung gelangt. Wird nun ein Überschuß von Flüssigkeit auf das Refraktometer gebracht, so quillt dieselbe beim Aufsetzen des Hilfsprismas seitwärts über den Spalt heraus. Für die Ablesungsziffer ist dies gleichgültig, nicht so für die Deutlichkeit. Unscharfe oder auch mehrfache, verschieden intensive Grenzen zwischen Licht und Schatten rühren meiner Erfahrung nach von diesem Umstande her. Es ist daher vorteilhaft, die überschüssige Flüssigkeit mit einer reinen Glascapillare abzusaugen und die zurückbleibenden Reste mit Fließpapier vorsichtig aufzuwischen. Auf diese Art gelingen ausnahmslos, selbst bei etwas getrübbtem Serum, scharfe und eindeutige Ablesungen.

Versuche mit inaktivierten Seris.

Wir haben seinerzeit mitgeteilt, daß in 23 von 32 untersuchten Fällen carcinomfreier, nicht fiebernder Patienten der Erhöhung des

Tabelle I.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endablesung beim					Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertstelskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	inakt. Serum	Carcinomzellen und physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen +			
							Serum	inakt. Serum	Serum	inakt. Serum
				Serum	inakt. Serum	Serum	inakt. Serum	Serum	inakt. Serum	
1	36	♂	Lues	-40	20	25	-10	-45	5	-90
2	25	♂	Lues	-5	-50	25	190	-35	170	-10
3	18	♀	Gonorrhöe	-10	25	5	20	20	25	-10
4	59	♂	Haemorrhag. cerebri	15	10	10	30	0	5	-20
5	73	♀	Haemorrhag. cerebri	-30	25	5	20	25	45	-5
6	34	♂	Lues	-35	-20	25	45	0	55	-5
7	28	♀	Lues	-45	15	20	-15	-80	10	-115
8	35	♀	Ulcus ventriculi	15	25	60	85	-105	10	-190
9	27	♀	Hemiplegie	-25	10	25	35	-25	35	-60
10	25	♂	Nephritis	10	-20	15	40	-35	15	-30
11	23	♂	Vitium cordis	-35	-10	20	25	-10	40	-20
12	54	♂	Myodegeneratio	-45	15	10	5	55	40	30
13	17	♂	Lues	35	15	15	60	100	10	70
14	53	♂	Arteriosklerose	-15	-20	45	35	55	5	30
15	58	♂	Coronarsklerose	0	-25	15	35	5	20	15
16	50	♀	Pleuritis	-55	0	10	-40	15	5	5
17	23	♀	Vitium cordis	-40	-50	5	40	-30	75	15
18	32	♀	Lues	10	-75	45	210	65	155	95
19	58	♂	Arteriosklerose	0	-30	45	240	65	195	50
20	34	♀	Iktus	-60	-20	15	-30	15	15	20
21	65	♀	Encephalomalacia	+30	0	5	30	15	-5	10
22	50	♂	Nephritis	10	-60	5	-35	5	-50	60

Brechungsvermögens bei der Reaktion ein Sinken desselben bei der Reaktion mit auf 60° (irrtümlicherweise ist in der ersten Mitteilung 56° angegeben) erhitztem, also inaktiviertem Serum entsprach. Bei dem Serum fiebernder, carcinomfreier Patienten konnten wir durch Inaktivieren keine Änderung der Verhältnisse hervorrufen, während bei 11 von 22 mit dem Serum nicht fiebernder Carcinomkranker ausgeführten Versuchen durch Inaktivieren desselben eine Umkehrung der Reaktion eintrat.

In die Tabellen I, II und III sind nun weitere derartige Untersuchungsergebnisse aufgenommen, und zwar enthält Tabelle I Messungen mit Seris carcinomfreier, nicht fiebernder, Tabelle II solche mit Seris carcinomkranker, nicht fiebernder und Tabelle III solche mit Seris carcinomfreier, fiebernder Patienten.

Tabelle II.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endablesung beim					Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertstelskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	inakt. Serum	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen +		Serum	inakt. Serum
							Serum	inakt. Serum		
23	58	♀	Ca. uteri	60	20	30	60	65	-30	15
24	54	♂	Ca. hepatis	40	-40	5	-15	20	-60	55
25	60	♂	Ca. ventriculi	15	-15	10	10	5	-15	10
26	28	♀	Ca. ventriculi	5	-60	15	15	35	-5	80
27	51	♀	Ca. uteri	15	-35	0	-115	-10	-130	25
28	32	♀	Ca. uteri	75	15	15	50	50	-40	20
29	58	♂	Ca. ventriculi	10	-30	10	10	-5	-10	15
30	64	♂	Ca. linguale	-5	5	15	-15	30	-25	10
31	62	♂	Ca. ventriculi	30	-20	25	5	40	-50	35
32	48	♂	Ca. pharyngis	25	10	25	20	45	-30	10
33	62	♀	Ca. mammae	-10	-15	20	-5	+15	-15	10
34	57	♀	Ca. uteri	-5	5	25	10	50	-10	20
35	59	♂	Ca. bronchii	35	-40	15	20	-10	-30	15
36	73	♀	Ca. faciei	-15	-10	15	-25	15	-25	10
37	48	♀	Ca. uteri	-10	-15	25	-10	5	-25	-5
38	65	♂	Ca. oesophagi	-15	-15	35	-15	5	-35	-15
39	58	♀	Ca. uteri	50	5	0	45	-5	-5	-10
40	57	♀	Ca. ventriculi	20	10	55	35	40	-40	-25
41	65	♀	Ca. tubae	40	-15	10	-10	-15	-60	-10
42	54	♂	Ca. prostatae	20	10	25	30	30	-15	-5

Bei 11 von 22 untersuchten Seris carcinomfreier, nicht fiebernder Patienten entsprach der Erhöhung des Brechungsvermögens bei der Reaktion mit nicht inaktiviertem Serum ein Sinken desselben bei der Reaktion mit demselben inaktivierten Serum. Bei 9 Seris trat keine

Tabelle III.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertsteilskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim					Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertsteilskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	inakt. Serum	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen +			
							Serum	inakt. Serum		
									Serum	inakt. Serum
43	28	♂	Perikarditis	-5	-20	40	-15	-35	-50	-55
44	33	♀	Typhus	-10	-15	40	20	10	-10	-15
45	28	♂	Pneumonie	10	15	30	20	10	-20	-35
46	33	♀	Sepsis	-20	10	25	-15	15	-20	-20
47	36	♂	Typhus	15	10	30	10	20	-35	-20
48	44	♀	Pneumonie	-15	-20	35	-5	-20	-25	-35
49	26	♀	Sepsis	30	10	20	30	15	-20	-15
50	17	♀	Typhus	-40	+25	10	25	-5	55	-40

Umkehrung ein. Bei 2 Seris zeigte die Reaktion mit unbehandeltem Serum ein Sinken des Brechungsvermögens; in diesen beiden Fällen trat bei der Reaktion mit inaktivem Serum eine Erhöhung, also ebenfalls eine Umkehrung der Reaktion ein.

Bei 14 von 20 untersuchten Seris carcinomkranker, nicht fiebernder Patienten, die eine Abnahme des Brechungsvermögens aufwiesen, trat eine Umkehrung der Reaktion durch Inaktivieren ein; bei den restlichen 6 Seris trat dadurch keine Änderung ein.

7 von 8 Seris carcinomfreier, fiebernder Patienten zeigten im Gegensatz zu den Fieberfreien eine Abnahme des Brechungsvermögens, die bei der Verwendung inaktiven Serums keine Änderung erfuhr. Ein Serum zeigte eine Erhöhung; bei Verwendung inaktiven Serums trat hier eine Abnahme ein.

Kurz möchte ich auf die beiden Fälle (21 und 22) hinweisen, bei denen bei der Reaktion mit nicht verändertem Serum ein Sinken des Brechungsvermögens auftrat, also ein Fehlresultat vorlag. Wichtig erscheint mir, daß auch hier mit inaktivem Serum eine Umkehrung eintrat, ein Umstand, der zu beweisen scheint, daß oft nicht technische Fehler an dem Mißlingen der Reaktion Schuld tragen, sondern daß solche Fehlresultate, wie sie ja den meisten biologischen Reaktionen anhaften, in der von der Regel abweichenden Zusammensetzung des Mediums zu liegen scheinen.

Versuche mit Seris bei Zusatz von Rhodannatrium.

Die von uns beobachtete Umkehrung der Reaktion bei der Inaktivierung, die ja für das Wesen der Carcinomreaktionen überhaupt von grundlegender Bedeutung sein muß, legte Versuche nahe, die bei der

Inaktivierung entstehenden Vorgänge zu ermitteln. Als eine Möglichkeit für die Änderung der Wirkung der zellzerstörenden Substanz wurden feine Gerinnungsvorgänge, die makroskopisch noch nicht zum Ausdruck kommen können, in Betracht gezogen. Um diese auszuschalten, wurden Versuche mit Zusatz von Rhodannatrium in folgender Weise angestellt:

Zu allen 3 Reaktionssystemen (Serum, Carcinomzellen + physiologische Kochsalzlösung, Serum + Carcinomzellen) wurden von einer 20 proz. Rhodannatriumlösung unmittelbar vor dem Versuche zu 1 cem je 2 Tropfen zugesetzt, so daß eine annähernd 2 proz. Lösung von Rhodannatrium resultierte. Vor dem Ablesen wurden die einzelnen Proben 15 Minuten stehengelassen und dann weiter, wie eingangs geschildert, vorgegangen. Die gewonnenen, einzelnen Endablesungsziffern wurden dann in der früher beschriebenen Art voneinander subtrahiert und das Ergebnis dieser Rechnung als Endresultat angenommen.

In nachfolgenden Tabellen IV, V, VI sind diesen Resultaten die ohne Zusatz von Rhodannatrium ermittelten Ergebnisse gegenübergestellt.

Tabelle IV.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertsteilskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum und den Carcinomzellen bedingte Änderung d. Brechungsvermögens in Hundertsteilskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen + Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + Ser. + 2% Rhodannatrium	Serum	Serum + 2% Rhodannatrium
3	18	♀	Gonorrhöe	-10	5	20	10	15	15	25	-10
5	73	♀	Haemorrhag. cerebri	-30	5	20	25	15	25	45	-15
7	28	♀	Lues	-45	20	15	-25	50	-15	10	-40
8	35	♀	Ulcus ventriculi	15	60	85	-10	80	-10	10	-80
9	27	♀	Hemiplegie	-25	25	35	10	30	20	35	-20
11	23	♀	Vitium cordis	-35	20	25	-15	25	-20	40	-30
12	54	♀	Myodegeneratio	-45	10	5	-5	20	0	40	-15
13	17	♀	Lues	35	15	60	-5	15	-15	10	-25
14	53	♀	Arteriosklerose	-15	45	35	-5	65	5	5	-55
15	58	♀	Coronarsklerose	0	15	35	10	15	10	20	-15
16	50	♀	Pleuritis	-55	10	-40	-20	15	-45	5	-40
1	36	♀	Lues	-40	25	-10	-60	30	30	5	60
2	25	♀	Lues	-5	25	190	-15	55	190	170	150
4	59	♀	Haemorrhag. cerebri	15	10	30	-65	25	15	5	55
6	34	♀	Lues	-35	25	45	-210	45	30	55	195
10	25	♀	Nephritis	10	15	40	-45	15	-5	15	25
17	23	♀	Vitium cordis	40	5	40	-45	20	-10	75	15
18	32	♀	Lues	10	45	210	-375	40	125	155	460
19	58	♀	Arteriosklerose	0	45	240	5	70	95	195	20
20	34	♀	Lues	-60	15	-30	-15	30	25	15	10
21	65	♀	Encephalomalacia	30	5	30	-40	40	20	-5	20
22	50	♀	Nephritis	10	5	-35	-20	15	15	-50	20

Tabelle V.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertstelskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen + Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + Ser. + 2% Rhodannatrium	Serum	Serum + 2% Rhodannatrium
23	58	♀	Ca. uteri	60	30	60	0	25	55	-30	30
25	60	♂	Ca. ventriculi	15	10	10	-10	5	0	-15	5
27	51	♀	Ca. uteri	15	0	-115	-100	0	-5	-130	95
28	32	♀	"	75	15	50	-20	5	35	-40	50
29	58	♂	Ca. ventriculi	10	10	10	-30	30	15	-10	15
31	62	♂	"	30	25	5	-60	30	5	-50	35
33	62	♀	Ca. mammae	-10	20	-5	-15	35	30	-15	10
34	57	♀	Ca. uteri	-5	25	10	-25	25	35	-10	35
35	59	♂	Ca. bronchii	35	15	20	-10	15	25	-30	20
38	65	♂	Ca. oesophagi	-15	35	-15	-30	10	0	-35	20
42	54	♂	Ca. prostatae	20	25	30	-30	20	0	-15	10
24	54	♂	Ca. hepatis	40	5	-15	-25	20	-20	-60	-15
26	28	♀	Ca. ventriculi	5	15	15	-20	15	-10	-5	-5
30	64	♂	Ca. linguae	-5	15	-15	-30	35	-5	-25	-10
32	48	♂	Ca. pharyngis	25	25	20	10	20	20	-30	-10
36	73	♀	Ca. faciei	-15	+15	-25	10	15	-15	-25	-40
37	48	♀	Ca. uteri	-10	25	-10	-50	45	-40	-25	-35
39	58	♀	"	50	0	45	-10	15	-5	-5	-10
40	57	♀	Ca. ventriculi	20	55	35	15	60	10	-40	-65
41	65	♀	Ca. tubae	40	10	-10	15	10	5	-60	-20

Tabelle VI.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertstelskalenteilen ausgedrückt beim	
				Serum	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung	Carcinomzellen + Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + physiol. Kochsalzlösung + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + Ser. + 2% Rhodannatrium	Serum	Serum + 2% Rhodannatrium
43	28	♂	Perikarditis	-5	40	-15	10	40	10	-50	-40
44	33	♀	Typhus	-10	40	20	-40	40	-15	-10	-15
45	28	♂	Pneumonie	10	30	20	20	15	20	-20	-15
46	33	♀	Sepsis	-20	25	-15	-15	25	-15	-20	-25
47	36	♂	Typhus	15	30	10	-20	10	-30	-35	-20
48	44	♂	Pneumonie	-15	35	-5	10	30	25	-25	-15
49	26	♀	Sepsis	30	20	30	15	10	-10	-20	-35
50	17	♀	Typhus	-40	10	25	-10	20	-5	55	-15

Bei 11 von 22 untersuchten Seris carcinomfreier, nicht fiebernder Patienten entsprach der Erhöhung des Brechungsvermögens bei der Reaktion mit dem Serum ein Sinken desselben bei der Reaktion mit demselben

Serum bei Zusatz von Rhodannatrium. Bei 9 Seris trat keine Umkehrung ein. Bei 2 Seris, die eine Abnahme des Brechungsvermögens zeigten, trat durch Zusatz von Rhodannatrium eine Erhöhung desselben ein.

Bei 11 von 20 Seris carcinomkranker, fieberfreier Patienten trat eine Umkehrung der Reaktion durch Rhodannatrium ein, bei den restlichen 9 keine Änderung des Brechungsvermögens.

Bei 7 von 8 carcinomfreien Fiebernden, die eine Abnahme des Brechungsvermögens zeigten, trat keine Erhöhung desselben ein, bei dem einen Serum, das eine Erhöhung zeigte, entstand eine Umkehrung durch Rhodannatrium.

Versuche mit inaktivierten Seris unter Zusatz von Rhodannatrium.

Es wurden nun Versuche mit denselben Seris bei gleichzeitiger Inaktivierung und Zusatz von 2% Rhodannatrium angestellt, und zwar sowohl vor als auch nach dem Inaktivieren.

In den Tabellen VII, VIII und IX sind die Endresultate der Ablesungen verzeichnet, und zwar entspricht das jeweilige Serum den in den früheren Tabellen mit gleicher Nummer angeführten. Von einer neuerlichen Gegenüberstellung aller Resultate wurde an dieser Stelle abgesehen, da die Übersichtlichkeit der Tabelle dadurch leiden würde.

Tabelle VII.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung d. Brechungsverm. in Hundertstelskalent. ausgedrückt beim	
				Serum inaktiviert + 2% Rhodannatr.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	Carcinomz. + Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	(Serum + 2% Rhodannatrium) inakt.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	Carcinomz. + (Serum + 2% Rhodannatrium) inaktiv.	Serum inaktiv. + 2% Rhodann.	(Serum + 2% Rhodann.) inaktiv.
1	36	♂	Lues	-90	30	20	-20	30	-70	80	-80
2	25	♂	"	20	55	40	-20	55	30	-35	-5
4	59	♂	Haemorrhag. cerebri	-5	25	-30				-50	
5	73	♀	"	-5	15	15				5	
6	34	♂	Lues	-10	45	30	5	45	20	-5	-30
7	28	♀	"	-10	50	0	-45	50	85	-40	80
8	35	♀	Ulcus ventriculi	0	80	-20	10	80	85	-100	-5
12	54	♂	Myodegeneratio	-20	20	45	-20	20	50	45	40
13	17	♂	Lues	125	15	80	90	15	70	-60	-35
14	53	♂	Arteriosklerose	120	65	15	10	65	105	-170	30
15	58	♂	Coronarsklerose	-40	15	-10				15	
16	50	♀	Pleuritis	-15	15	45	-20	15	-15	45	-10
17	23	♀	Vitium cordis	-10	20	30	-15	20	15	20	10
18	32	♀	Lues	-15	40	125	30	40	75	100	5
19	58	♂	Arteriosklerose	-5	70	125	10	70	160	60	80
20	34	♀	Ikterus	-5	30	-5	-10	30	-25	-30	-45
21	65	♀	Encephalomalacia	-20	40	-35				-55	
22	50	♂	Nephritis	-25	15	-5				5	

Tabelle VIII.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung d. Brechungsverm. in Hundertstelskalent. ausgedrückt beim	
				Serum inaktiviert + 2% Rhodannatr.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	Carcinomz. + Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	(Serum + 2% Rhodannatrium) inakt.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	(Serum + 2% Rhodannatrium) inaktiv.	Serum inaktiv. + 2% Rhodann.	(Serum + 2% Rhodann.) inaktiv.
23	58	♀	Ca. uteri	-25	25	50	15	25	115	50	75
24	54	♂	Ca. hepatis	-30	20	-55	-45	20	30	-45	55
25	60	♂	Ca. ventriculi	-5	5	0				0	
26	28	♀	Ca. "	-30	+15	10	-15	15	60	25	60
27	51	♀	Ca. uterie	-5	0	15	-15	0	-20	20	-5
28	32	♀	"	-10	5	10	15	5	10	15	-10
29	58	♂	Ca. ventriculi	5	30	25	-5	30	40	-10	15
30	64	♂	Ca. linguae	0	35	-70	-10	+35	35	-105	10
31	62	♂	Ca. ventriculi	-25	30	-50	-10	30	15	-55	-5
37	48	♀	Ca. uteri	-30	45	5	-10	45	35	-10	0
38	65	♂	Ca. oesophagi	-15	10	15				20	
39	58	♀	Ca. uteri	10	15	5	-60	15	15	-20	60
40	57	♀	Ca. ventriculi	15	60	65	-5	60	70	-10	15

Tabelle IX.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertstelskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim						Durch Reaktionen zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung d. Brechungsverm. in Hundertstelskalent. ausgedrückt beim	
				Serum inaktiviert + 2% Rhodannatr.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	Carcinomz. + Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	(Serum + 2% Rhodannatrium) inakt.	Carcinomz. + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzl.	(Serum + 2% Rhodannatrium) inaktiv.	Serum inaktiv. + 2% Rhodann.	(Serum + 2% Rhodann.) inaktiv.
43	28	♂	Perikarditis	-10	30	-5	5	30	10	-25	-25
44	33	♀	Typhus	10	40	15	5	40	-40	-35	-85
45	28	♂	Pneumonie	35	20	20	-10	20	-45	-35	-55
46	33	♀	Sepsis	-15	30	10	15	30	10	-5	-35
47	36	♂	Typhus	-60	35	-40	-10	35	-15	-15	-40
48	44	♂	Pneumonie	15	20	-10	-10	20	-10	-45	-20
49	26	♀	Sepsis	20	15	-5	10	15	15	-40	-10
50	17	♀	Typhus	-5	20	-20	30	20	20	-35	-30

Eine zusammenfassende Übersicht auf Grund dieser Tabelle zu geben, erscheint unmöglich. Es ist nicht gleichgültig, ob das Rhodannatrium vor oder nach dem Inaktivieren zugesetzt wird, da die Endresultate nicht übereinstimmen. Die beiden Vorgänge scheinen Veränderungen hervorzurufen, die sich bald aufheben, bald summieren, wodurch entweder Umkehrung oder Stabilität resultiert. Es wäre auch denkbar, daß die beiden Vorgänge immer entgegengesetzt wirken, d. h. immer wieder eine Umkehrung hervorrufen, und das Resultat nur der

Ausdruck des Überwiegens der ziffernmäßig stärkeren Reaktion wäre. Doch läßt sich dieser Schluß bei der Wertlosigkeit der absoluten Zahlen infolge der uns sicher nur zum Teil bekannten Fehlerquellen unmöglich beweisen.

Versuche mit Seris, die 14 Tage im Eisschrank stehengelassen wurden.

Freund und Kaminer haben bei ihren Versuchen bekanntgegeben, daß nur frisches Serum verwendet werden kann, da dasselbe seine Abbaufähigkeit nach 2—8 Tagen verliert. Wir haben nun ebenso wie beim Inaktivieren diese Versuche auch auf Carcinomsera ausgedehnt und geben in folgender Tabelle X die Resultate derselben bekannt.

Das hierzu verwendete Serum wurde steril abpipettiert und in einer sterilen Epröuvette 14 Tage am Eise aufbewahrt. Vor dem Versuche wurde eine Sterilitätsprobe angestellt, wobei alle nicht einwandfreien Sera ausgeschieden wurden. Dadurch erscheint unsere Versuchsreihe relativ klein.

Tabelle X.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	In Hundertsteilskalenteilen ausgedrückte Differenz zwischen Anfangs- und Endresultat beim								Durch Reaktion zwischen dem Serum u. d. Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertsteilskalenteilen ausgedrückt bei		
				Serum	Serum inaktiviert	Carcinomzellen + phys. Kochsalzlos.	Carcinomzellen + Serum	Carcinomzellen + Serum inaktiv.	Serum + 2% Rhodannatrium	Carcinomzellen + 2% Rhodannatrium + phys. Kochsalzlos.	Carcinomzellen + 2% Rhodannatrium + Serum	Serum	inakt. Serum	Serum + 2% Rhodannatrium
7	28	♀	Lues	45	30	75	-20	0	5	120	30	-140	-105	-85
13	17	♂	Lues	0	-30	20	-10	25	-45	40	195	-30	35	20
14	53	♂	Arteriosklerose	30	-20	30	40	45	-30	35	15	-20	35	10
18	32	♀	Lues	-10	25	45	20	35	10	25	55	-15	-35	20
19	58	♂	Arteriosklerose	15	-10	30	50	-10	20	20	35	5	-30	-5
21	65	♀	Encephalomal.	-15	15	35	30	20	15	30	10	10	-30	-35
28	32	♀	Ca. uteri	-30	15	10	0	5	20	25	30	20	-20	-15
31	62	♂	Ca. ventriculi	-20	-30	10	15	-30	-50	40	0	25	-10	10
35	59	♂	Ca. bronchii	-25	15	-10	-10	5	0	10	5	25	0	-5
39	58	♀	Ca. uteri	10	-20	15	40	35	15	35	30	15	-30	-20
40	57	♀	Ca. ventriculi	-10	5	65	5	35	-15	115	45	-50	-35	-55
42	54	♂	Ca. prostatae	30	20	20	20	5	40	35	10	-30	-35	-65
43	28	♂	Perikarditis	-25	-5	75	0	-20	15	65	-15	-50	-80	-95
45	28	♂	Pneumonie	5	0	65	35	25	10	10	10	-35	-40	-10
48	44	♂	Pneumonie	-25	-10	50	-15	20	-10	20	-5	-40	-20	-15
50	17	♀	Typhus	10	-10	40	-40	35	-10	35	-20	-90	-5	-45

Bei 4 von 6 Seris carcinomfreier, nicht fiebernder Patienten entsprach der Erhöhung des Brechungsindex bei der Reaktion mit dem Serum ein Sinken desselben, wenn es 14 Tage im Eisschrank aufbewahrt worden war. Bei Serum 21, das ein Sinken des Brechungsvermögens zeigte, trat nach dem Stehenlassen eine Erhöhung, also ebenfalls eine Umkehrung ein.

Bei 4 von 6 Seris Carcinomkranker, nicht Fiebernder trat ebenfalls eine Umkehrung der Reaktion ein.

Bei den restlichen Seris und den 4 Seris Fiebernder trat durch das Stehenlassen keine Änderung ein.

Diese Sera wurden nun ebenso wie in den früheren Versuchen sowohl durch Erhitzen auf 60° inaktiviert als auch nach Zusatz von 2% Rhodannatrium zur Reaktion verwendet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind ebenfalls in vorstehender Tabelle verzeichnet.

Es konnte beobachtet werden, daß diese Veränderungen auch bei stehengelassenen Seris zum größten Teil eine Umkehrung des Abbauverhältnisses, ausgedrückt in der Veränderung des Brechungsindex, hervorrufen, genau so, wie bei den frisch verwendeten Seris. Eine Ausnahme bildeten hier wie dort die Sera Fiebernder.

In den folgenden Tabellen sind die Endresultate aller angestellten Versuche zum Vergleiche gegenübergestellt.

Tabelle XI.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	Durch Reaktionen zwischen dem Serum und den Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertsteilskalentellen ausgedrückt beim						nach 14 tägiger Aufbewahrung im Eisschrank		
				Serum	inaktiviertes Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	Serum + 2% Rhodannatrium inaktiv.		Serum	Serum inaktiviert	Serum + 2% Rhodannatrium
1	36	♂	Lues	5	-90	60	80	-80				
2	25	♂	"	170	-10	150	-35	-5				
3	18	♀	Gonorrhöe	25	-10	-10						
4	59	♂	Haemorrhagia cerebri	5	-20	55	-50					
5	73	♀	"	45	-5	-15	5					
6	34	♂	Lues	55	-5	195	-5	-30				
7	28	♀	"	10	-117	-40	-40	80	-140	-105	-85	
8	35	♀	Ulcus ventriculi	10	-190	-80	-100	-5				
9	27	♀	Hemiplegie	35	-60	-20						
10	25	♂	Nephritis	15	-30	25						
11	23	♂	Vitium cordis	40	-20	-30						
12	54	♂	Myodegeneratio	40	30	-15	45	50				
13	17	♂	Lues	10	70	-25	-60	-35	-30	35	200	
14	53	♂	Arteriosklerose	5	30	-55	-170	30	-20	35	10	
15	58	♂	Coronarsklerose	20	15	-15	15					
16	50	♀	Pleuritis	5	5	-40	45	-10				
17	23	♀	Vitium cordis	75	15	15	20	10				
18	32	♀	Lues	155	95	460	100	5	-15	-35	20	
19	58	♂	Arteriosklerose	195	50	20	60	80	5	-30	-5	
20	34	♀	Iktus	15	20	10	-30	-45				
21	65	♀	Encephalomalacia	-5	10	20	-55		10	-30	-35	
22	50	♂	Nephritis	-50	60	20	5					

Tabelle XII.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	Durch Reaktionen zwischen dem Serum und den Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertsteilskalenten ausgedrückt beim						nach 14tägiger Aufbewahrung im Eisschrank		
				Serum	inaktiviertes Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	Serum + 2% Rhodannatrium (Serum + 2% Rhodannatr.) inaktiv.		Serum	Serum inaktiviert	Serum + 2% Rhodannatr.
23	58	♀	Ca. uteri	-30	15	30	50	75				
24	54	♀	Ca. hepatis	-60	55	-15	-45	55				
25	60	♀	Ca. ventriculi	-15	10	5	0					
26	28	♀	"	-5	80	-5	25	60				
27	51	♀	Ca. uteri	-130	25	95	20	-5				
28	32	♀	"	-40	20	50	15	-10	20	-20	-15	
29	58	♀	Ca. ventriculi	-10	15	15	10	15				
30	64	♀	Ca. linguae	-25	10	-10	-105	10				
31	62	♀	Ca. ventriculi	-50	35	35	-55	-5	25	-10	10	
32	48	♀	Ca. pharyngis	-30	10	-10						
33	62	♀	Ca. mammae	-15	10	10						
34	57	♀	Ca. uteri	-10	20	35						
35	59	♀	Ca. bronchii	-30	15	20			25	0	-5	
36	73	♀	Ca. faciei	-25	10	-40						
37	48	♀	Ca. uteri	-25	-5	-35	-10	0				
38	65	♀	Ca. oesophagi	-35	-15	20	20					
39	58	♀	Ca. uteri	-5	-10	-10	-20	60	15	-30	-20	
40	57	♀	Ca. ventriculi	-40	-25	-65	-10	15	-50	-35	-55	
41	65	♀	Ca. tubae	-60	-10	-20						
42	54	♀	Ca. prostatae	-15	-5	10			-30	-35	-65	

Tabelle XIII.

Nr. des Blutes	Alter	Geschlecht	Diagnose	Durch Reaktionen zwischen dem Serum und den Carcinomzellen bedingte Änderung des Brechungsvermögens in Hundertsteilskalenten ausgedrückt beim						nach 14tägiger Aufbewahrung im Eisschrank		
				Serum	inaktiviertes Serum	Serum + 2% Rhodannatrium	Serum inaktiviert + 2% Rhodannatrium	Serum + 2% Rhodannatrium (Serum + 2% Rhodannatr.) inaktiv.		Serum	Serum inaktiviert	Serum + 2% Rhodannatr.
43	28	♀	Pericarditis	-50	-55	-40	-25	-25	-50	-80	+95	
44	33	♀	Typhus	-10	-15	-15	-35	-85				
45	28	♀	Pneumonie	-20	-35	-15	-35	-55	-35	-40	-10	
46	33	♀	Sepsis	-20	-20	-25	-5	-35				
47	36	♀	Typhus	-35	-20	-20	-15	-40				
48	44	♀	Pneumonie	-25	-35	-15	-45	-20	-40	-20	-15	
49	26	♀	Sepsis	-20	-15	-35	-40	-10				
50	17	♀	Typhus	55	10	-15	-35	-30	-90	+5	-45	

Aus dieser Tabelle können wir entnehmen, daß es gelingt, mit einigen Veränderungen des Serums die Reaktionen zwischen demselben und den Carcinomzellen umzukehren, wobei bemerkt werden muß, daß die ausgeführten Versuche nur einen Bruchteil der Möglichkeiten zu beinhalten scheinen, da uns selbst noch mehrere Umstände bekannt sind, durch welche zumindest die positive Abbaufähigkeit aufgehoben wird. Ich erinnere nur daran, daß schon *Freund* und *Kaminer* manche Fälle von schweren Ikterus, chylöses Verdauungsserum, Leberkrankheiten aus diesem Grunde nicht verwerten konnten und andererseits bekannt ist, daß Röntgen- und Radiumstrahlen wieder eine Änderung der Abbaufähigkeit von Carcinomserum in positivem Sinne hervorrufen. Nehmen wir unsere Methode, Versuche mit isoliertem, überlebendem Zellmaterial, als Ausgangspunkt, so können wir auch bei den Methoden von *Abderhalden* und *Pregel*, die mit gekochtem Carcinommaterial arbeiten, von einer Umkehrung der Reaktion sprechen.

Es erhebt sich nun die Frage, ob wir durch unsere Versuche der Erforschung des Wesens der Reaktion näher gekommen sind. Wenn wir dies auch verneinen müssen, so scheint uns dennoch kein anderer Weg dafür offen, als durch Beobachtung der verschiedensten Modifikationen vielleicht doch zur endgültigen Entscheidung zu gelangen.

Wenn wir unsere Ergebnisse daraufhin betrachten, so möchte ich zuerst noch einmal auf eine Beobachtung hinweisen, die in dieser Richtung mehr oder weniger auszuschalten wäre und mehr technisches Interesse bietet. Wir haben 2 Sera von Carcinomfreien, nicht Fiebernden untersucht, die eine Herabsetzung des Brechungsvermögens zeigten, also eine falsche Diagnose ergaben. Zwei Möglichkeiten müssen wir dabei ins Auge fassen. Entweder sind diese Fehlergebnisse durch Fehler in der Methode bedingt oder es gibt Sera, die alle Eigentümlichkeiten von Carcinomseris besitzen, ohne jedoch in irgendeinem nachweisbaren Zusammenhange mit Carcinom zu stehen. Da nun die weiteren Untersuchungen, wie Inaktivieren, Zusatz von Rhodannatrium, Stehenlassen zeigten, daß das Serum sich dabei immer wie ein Carcinomserum verhielt, müssen wir letztere Möglichkeit zugeben, da doch ein so konstantes und wiederholtes Fehlschlagen gerade bei *einem* Serum nicht anzunehmen ist. Wir können daher schließen, daß zumindest ein großer Teil aller Fehlergebnisse nicht auf technische Fehler zurückzuführen ist, sondern in den Eigenschaften des Serums selbst bedingt erscheint.

Eine der wichtigsten Fragen scheint uns die, ob die abbauende Substanz im Carcinomserum bei den Methoden von *Abderhalden* und *Pregel*, mit der zerstörenden Substanz im Normalserum bei *Freund-Kaminer*, *Neuberg* und *Koritschoner-Morgenstern* identisch und nur durch die Verschiedenheit des Materiales bedingt ist. Darauf können wir wohl heute noch keine abschließende Antwort geben; doch scheint es

sich eher um zwei grundsätzlich verschiedene Vorgänge zu handeln, über deren Wesen noch nichts Bestimmtes gesagt werden kann; doch soviel will ich an dieser Stelle bemerken, daß es einen in der Chemie und Serochemie wohl einzig dastehenden Fall darstellen würde, und das können wir auch auf alle unsere Umkehrungsversuche anwenden, daß durch einen, wenn auch eingreifenden Vorgang, wie hier das langandauernde Kochen des Zellmaterials, bei einem Serum die Reaktion verschwindet, bei dem anderen hervorgerufen wird. Es ist demnach die Möglichkeit ins Auge zu fassen, daß wir es einerseits mit der sog. zellzerstörenden Komponente zu tun haben, die sich im normalen Serum findet, von *Freund-Kaminer* im Ätherextrakt nachgewiesen wurde und beim Erhitzen, Zusatz von Rhodannatrium, Stehenlassen verschwindet und beim Zusammentreffen mit gekochtem Material vielleicht gebunden wird. Im Carcinomserum fehlt diese Substanz. Doch scheint sich in letzterem eine in der Wirkungsweise ähnliche zu finden, die aber gebunden nicht zum Ausdrucke kommt und erst durch vorgenannte Veränderungen frei und wirksam wird. Im Serum Fiebernder scheinen beide Komponenten zu fehlen.

Diese Hypothese würde für einen Teil unserer Versuche ausreichen. Nicht vereinbar ist damit die Tatsache, daß durch Stehenlassen des Serums eine Umkehrung der Wirkungsweise entsteht, die aber keinen stabilen Zustand darstellt, sondern durch Inaktivieren und Zusatz von Rhodannatrium wieder umgekehrt werden kann. Wir müssen annehmen, daß das Stehenlassen in ganz anderer Weise auf das Serum einwirkt wie die beiden anderen Vorgänge, und daß dadurch tatsächlich eine grundsätzliche Änderung desselben eintritt, die ein Serum effektiv in das andere umwandelt.

Die Tatsache, daß ein und dasselbe Serum durch Inaktivieren umgekehrt, durch Rhodannatrium aber nicht verändert wird, können wir bei der Inkonstanz der Wirkung dieser Vorgänge wohl nicht als Beweis gegen die Identität der beiden Vorgänge verwerten.

Wir sehen, daß zur Erklärung unserer Ergebnisse eine äußerst komplizierte theoretische Annahme notwendig ist, was bei der Mannigfaltigkeit der Resultate nicht wundernehmen kann. Weitere Untersuchungen müssen erweisen, was von den geäußerten Ansichten bestehen kann und was als nicht erwiesen und überflüssig fallen gelassen werden muß.

Zusammenfassung.

1. a) Bei 20 von 22 untersuchten Seris nichtfiebernder, carcinomfreier Individuen trat durch die Reaktion mit präparierten Carcinomzellen eine Erhöhung des Brechungsvermögens des Serums ein.

b) Bei 20 Seris nichtfiebernder Carcinomkranker erfuhr dasselbe eine Verminderung.

- c) Bei 7 von 8 Seris carcinomfreier Fiebernder sank dasselbe.
 - 2. a) Bei 13 von 22 Seris carcinomfreier, fieberfreier Patienten trat durch die Reaktion mit auf 60° erhitztem Serum eine Umkehrung derselben ein.
 - b) Ebenso bei 14 von 20 Seris fieberfreier Carcinomkranker.
 - c) Bei 7 von 8 Seris carcinomfreier Fiebernder trat keine Änderung des Brechungsvermögens ein.
 - 3. a) Bei 13 von 22 Seris carcinomfreier, fieberfreier Patienten trat durch Zusatz von 2% Rhodannatrium zum Serum eine Umkehrung der Reaktion ein.
 - b) Ebenso bei 11 von 20 Seris fieberfreier Carcinomkranker.
 - c) Bei 7 von 8 Seris carcinomfreier Fiebernder trat keine Änderung des Brechungsvermögens ein.
 - 4. Bei gleichzeitigem Inaktivieren und Zusatz von Rhodannatrium zum Serum und zwar vor und nach dem Inaktivieren trat bald eine Umkehrung ein, bald unterblieb sie.
 - 5. a) Bei 5 von 6 Seris carcinomfreier, fieberfreier Individuen trat eine Umkehrung der Reaktion durch Stehenlassen des Serums durch 14 Tage am Eis ein.
 - b) Bei 4 von 6 Seris fieberfreier Carcinomkranker ebenfalls.
 - c) Bei 4 Seris carcinomfreier Fiebernder unterblieb dieselbe.
 - 6. Beim Inaktivieren oder Zusatz von Rhodannatrium zu diesen 14 Tage im Eis aufbewahrten Seris trat in den meisten Fällen neuerlich eine Umkehrung der Reaktion ein.
-

Berichtigung

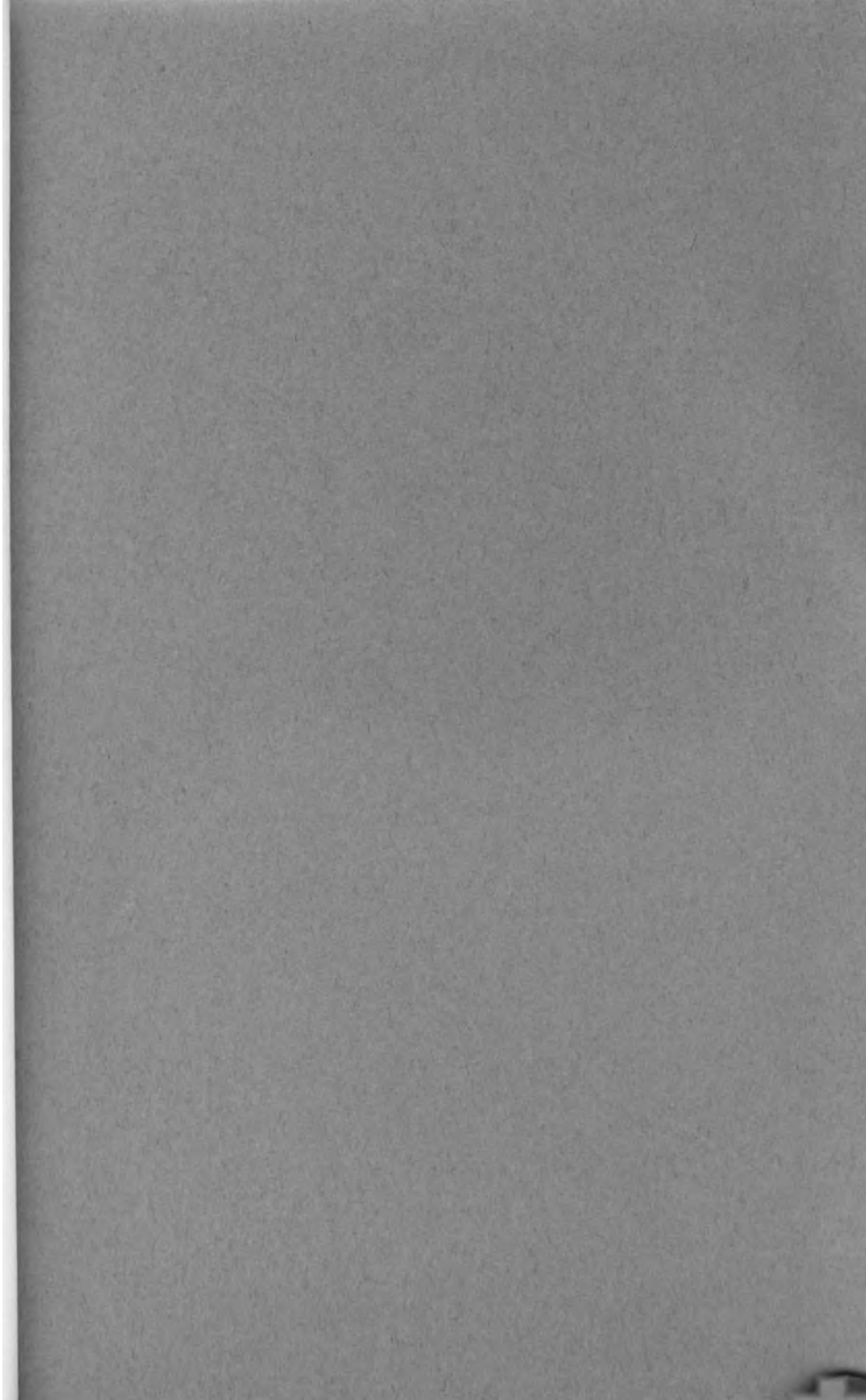
zur Mitteilung von *Ad. Oswald*, diese Zeitschr. **127**, 156. 1922.

In der im Band **127**, Seite 156 dieser Zeitschrift erschienenen Abhandlung, „Die physiologische Wirkung der Metallammoniake und verwandter Verbindungen“ ist durch ein Versehen des Korrektors die Bezeichnung Ammin, z. B. Hexamin-cobaltichlorid, in Amin, so Hexamin-cobaltichlorid, umgeändert. Daraus kann eine Verwechslung resultieren, da außer Amminen auch Amine untersucht wurden. Der aufmerksame Leser wird aus der beigegebenen Formel sehen, wo Ammine und wo Amine gemeint sind. Im Text, wo keine Formeln beigegeben sind, ist so gut wie durchweg von Amminen die Rede.

Autorenverzeichnis.

- Abelin, J.* Beiträge zur Kenntnis der physiologischen Wirkung der proteino-genen Amine. V. Mitteilung. Vegetatives Nervensystem und Stoffwechsel. S. 1.
- Bachem, C.* Über ein neues Antisep-ticum mit hohem Jodgehalt (Djä-thylendisulfidtetrajodid). S. 190.
- Bartfeld, Bernhard.* Über die subakute Uranvergiftung der Kaninchen. S. 534.
- Berczeller, L.* Über die biologische Wer-tung der Nahrungsmittel. S. 217.
- Über die Rolle der Artspezifität der Eiweißkörper in der Ernährung. Legu-minosen. S. 239.
- Über die Rolle des Geschmackes (Instinkt) in der Ernährung. Legu-minosen. S. 251.
- Brotgetreidearten. S. 270.
- Die Untersuchung des Mahlprozes-ses. S. 289.
- Die Untersuchung des Sojamehles. S. 313.
- Die biologische Korrelation zwischen hauptsächlich eiweiß- und hauptsäch-lich kohlenhydrathaltiger Nahrung. S. 320.
- Biedermann, W.* Die Regeneration der Diastase und ihre Abhängigkeit vom Sauerstoff. S. 582.
- Boas, Friedrich.* Untersuchungen über die Mitwirkung der Lipoide beim Stoffaustausch der pflanzlichen Zelle. II. Mitteilung. S. 144.
- Butkewitsch, Wl.* Über die Bildung der Oxalsäure und des Ammoniaks in den Kulturen von *Aspergillus niger* auf Pepton. S. 445.
- Die Ausnutzung des Peptons als Kohlenstoffquelle durch die *Citro-myces*-Arten. S. 455.
- Über die Bildung und Anhäufung der Oxalsäure in den *Citromyces*-Kulturen auf den Salzen der or-ganischen Säuren. S. 464.
- Cobet, R., und V. van der Reis.* Über den Einfluß der arsenigen Säure auf das Bakterienwachstum. (Nebst Be-merkungen über Randwulstbildungen durch sogenannte oligodynamische Metallwirkung.) S. 73.
- Falla, W., und M. Richter-Quittner.* Noch-mals zur Frage der Verteilung des Zuckers auf Blutkörperchen und Plasma. S. 576.
- Freudenberg, E., und P. György.* Über Kalkbindung durch tierische Gewebe. VII. Mitteilung. S. 134.
- Über Kalbbindung durch tierische Gewebe. VIII. Mitteilung. S. 138.
- Günzburg, Ludwig.* Über Theobromin-ausscheidung und Theobromindiurese. S. 549.
- György, P.* s. Freudenberg.
- Hamburger, H. J.* Bestimmung der rela-tiven Anzahl roter Blutkörperchen ver-schiedener Resistenz (osmotische Resi-stenzkurve) mittels Na_2SO_4 . Einfluß der Nahrung auf Resistenz und Regene-ration bei Blutungsanämie. S. 163.
- , *Rudolf J.* Über die Bedeutung der Kalium- und Calciumionen für das künstliche Ödem und für die Gefäß-weite. S. 153.
- Haramaki, Katsumi.* Über den Einfluß von Secretinlösungen auf die Darm-motilität. S. 128.
- Vergleichende Untersuchungen über die Wirkungsstärke der Secretine des Digestionstractus. S. 503.
- Hetényi, Stefan.* Die Wirkung des Phlorrhizins auf den Blutzucker bei diffusen doppelseitigen hämatogenen Nierenerkrankungen. Ein Beitrag zur Frage der Phlorrhizinwirkung. S. 183.

- Hofmeister, Franz.* Studien über qualitative Unterernährung. II. Mitteilung. Der experimentelle Nachweis des Antineuritins. S. 477.
- Kiß, Julius.* Zur physikalischen Chemie der Alexinbindungsreaktionen. S. 487.
- Kofler, Ludwig.* Die Oberflächenaktivität und die Giftwirkung der Saponine. Ein Beitrag zur Kenntnis der Beziehungen zwischen physiologischer Wirkung und physikalischen Eigenschaften. S. 64.
- Koritschoner, Robert.* Refraktometrische Untersuchungen über die Reaktionen zwischen isolierten Krebszellen und Blutserum. II. Mitteilung. S. 605.
- Ljungdahl, Malte.* Zur Frage der Restreduktion. S. 111.
- Lischütz, I.* Zur Kenntnis des Metacholesterins und seiner Nebenprodukte. III. Mitteilung. S. 115.
- Loeb, L. Farmer.* Über die Coffeinkonzentration im Blut und Harn beim Kaninchen nach parenteraler Einverleibung. S. 570.
- Meyer, Kurt.* Nachtrag zu meiner Arbeit: Zur Kenntnis des heterogenetischen Hammelblutantigens. S. 187.
— Über die Beziehungen des heterogenetischen Hammelblutantigens zu anderen lipoiden Antigenen. S. 188.
- Meyerhof, Otto.* Die Verbrennungswärme der Milchsäure. S. 594.
- Okushima, Kwanichiro.* Über die Coffeinausscheidung im Harn nach dem Tee- und Kaffeetrinken beim Menschen. S. 563.
- Partos, S.* Über das Hämochrom von Herzfeld und Klinger. S. 89.
- Reis, V. van der* s. Cobet.
- Richter-Quittner, M.* s. Falta.
- Rosenmann, M.* Über Fibrinolyse. III. Mitteilung. S. 101.
- Sarin, E.* Über die Fermente der Verdauungsorgane der Skorpione. S. 359.
- Seiffert, W.* Der Löhnersche Randwulst am keimfreien Hof als Stütze des Arndtschen Grundgesetzes. S. 50.
- Turina, Božo.* Vergleichende Versuche über die Einwirkung der Selen-, Schwefel- und Tellursalze auf die Pflanzen. (Nebst Bemerkungen zu der Frage, ob die allgemeine Ansicht von der Absorption der anorganischen Stoffe durch das Wurzelsystem zu ändern ist.) S. 507.
- Tsuji, M.* Über den Stoffwechsel bei vitaminfreier Ernährung. S. 194.
- Walbum, L. E.* Studien über die Bildung der bakteriellen Toxine. I. Mitteilung. Staphylolysin. S. 367.
- Weber, Ulrich.* Beitrag zur Kenntnis der esterbildenden Hefen. S. 208.



STACKS

141727

